



UNIVERSIDAD NACIONAL  
DE MAR DEL PLATA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

FACULTAD DE INGENIERÍA

## **Desarrollo de Materiales Compuestos de Hidroxiapatita y Titanato de Bario**

Proyecto Final presentado por:

**Francisco Javier Vouilloz**

Para optar al grado académico de:

**Ingeniero en Materiales**

Dirección: **Dra. María Alejandra Fanovich**

Co-Dirección: **Dra. Miriam Susana Castro**

**-Mar del Plata, 26 de Agosto de 2013-**



RINFI se desarrolla en forma conjunta entre el INTEMA y la Biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Tiene como objetivo recopilar, organizar, gestionar, difundir y preservar documentos digitales en Ingeniería, Ciencia y Tecnología de Materiales y Ciencias Afines.

A través del Acceso Abierto, se pretende aumentar la visibilidad y el impacto de los resultados de la investigación, asumiendo las políticas y cumpliendo con los protocolos y estándares internacionales para la interoperabilidad entre repositorios



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-  
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

## **Agradecimientos**

A mis directoras del trabajo, Alejandra y Miriam, por el apoyo, la orientación, la confianza y la dedicación brindada. Gracias también por sus comentarios tanto del proyecto como de la vida.

A los integrantes de la División Cerámicos del INTEMA, por su predisposición a ayudar, por las risas y los almuerzos compartidos. En especial, gracias a Leandro Ramajo por colaborar en el proceso de polarización.

A mi familia, a mis padres, mis hermanos y mis abuelos, por apoyarme en la elección de esta carrera, pero sobre todo por acompañarme, apoyarme y educarme siempre.

A mi novia, Mica, que me acompañó a lo largo de la carrera, compartiendo nervios y alegrías, y afortunadamente continuamos con el mismo rumbo.

A mis amigos y compañeros de la facultad, que condimentaron las cursadas, las tardes de estudio y las salidas, y espero que lo sigan haciendo después de esta etapa. Gracias en especial a Carla, Chris, Gina, Javi, Juan, Oli y Shei.

Finalmente, a los profesores de la carrera, que año a año transmiten sus conocimientos y experiencias a los alumnos, formándonos como profesionales y como personas.

## Índice

1.- Introducción.....	4
1.1- Biomateriales .....	4
1.2- Fosfatos de calcio e hidroxiapatita.....	4
1.3- Materiales piezoeléctricos.....	7
1.4- Cerámicos de Titanato de Bario (BaTiO <sub>3</sub> ).....	11
1.5- Materiales compuestos hidroxiapatita-titanato de bario .....	13
1.6- Objetivo general y objetivos específicos del trabajo .....	14
2.- Parte experimental .....	15
2.1- Materiales.....	15
2.1.1- Síntesis de titanato de bario (sBT) .....	15
2.1.2- Síntesis de hidroxiapatita (sHA) .....	15
2.2- Métodos.....	16
2.2.1- Preparación de las mezclas HA y BT.....	16
2.2.2- Conformado de las pastillas .....	16
2.2.3- Eliminación del ligante orgánico.....	16
2.2.4- Proceso de sinterizado .....	18
2.2.5- Medición de densidad.....	18
2.2.6- Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX).....	19
2.2.7- Caracterización por microespectroscopía Raman .....	20
2.2.8- Caracterización por Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR).....	20
2.2.9- Caracterización por Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	21
2.2.10- Caracterización por Dispersión de energías de Rayos-X (EDS).....	21
2.2.11- Medición de propiedades dieléctricas ( $\epsilon'$ y $\epsilon''$ ) .....	22
2.2.12- Medición de la constante piezoeléctrica ( $d_{33}$ ) .....	22

2.2.13- Medición del ángulo de contacto .....	23
2.2.14- Estudio de citotoxicidad .....	24
3.- Resultados y Discusión.....	25
3.1- Caracterización de los materiales de partida.....	25
3.2- Materiales compuestos a partir de polvos comerciales (cHA, cBT).....	28
3.2.1- Medidas de densidad .....	28
3.2.2- Caracterización por DRX .....	29
3.2.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman.....	31
3.2.4- Caracterización microestructural mediante SEM.....	32
3.2.5- Comportamiento dieléctrico .....	34
3.3- Materiales compuestos a partir de polvos sintéticos (sHA, sBT) .....	35
3.3.1- Medidas de densidad .....	35
3.3.2- Caracterización por DRX .....	36
3.3.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman.....	37
3.4- Materiales compuestos a partir de titanato de bario comercial y de hidroxiapatita sintética (cBT, sHA).....	38
3.4.1- Medidas de densidad .....	38
3.4.2- Caracterización por DRX .....	39
3.4.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman.....	40
3.4.4- Caracterización microestructural mediante SEM.....	41
3.4.5- Comportamiento dieléctrico .....	42
3.4.6- Coeficiente piezoeléctrico .....	45
3.4.7- Características superficiales de las muestras.....	46
3.4.8- Ensayos biológicos de citotoxicidad .....	50
4.- Conclusiones.....	54
5.- Trabajo futuro .....	56
6.- Referencias .....	57

## 1.- Introducción

### 1.1- Biomateriales

El término biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de dispositivos que interactúan con sistemas biológicos y que se aplican en diversas ramas de la medicina como implantes permanentes o temporales. Entre las características de estos materiales no puede faltar la de ser biocompatibles, o biológicamente aceptables. La **biocompatibilidad** es una propiedad inherente a cualquier biomaterial, y se define como la capacidad de un determinado material para dar una respuesta biológica apropiada en una aplicación específica<sup>[1]</sup>. Cualquier material implantado en el organismo no debe provocar reacciones adversas que impidan obtener el efecto deseado. De este modo, en la evaluación de un material resulta fundamental evaluar su biocompatibilidad ya que permanecen en contacto con los tejidos vivos, por lo que resulta imprescindible que no se produzcan reacciones no deseadas en la interfaz tejido-material y que mantengan sus prestaciones durante el tiempo que tengan que desempeñar su función.

En el diseño de un biomaterial es preciso conjugar una serie de elementos como las características químicas, físicas y la textura de la superficie del implante, como también la solubilidad, la reactividad de la superficie a implantar y los factores biomecánicos. En este sentido, los materiales destinados a la fabricación de implantes deben reunir una serie de propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas específicas.

### 1.2- Fosfatos de calcio e hidroxiapatita

Hacia finales de los años 60 surgió un gran interés en la utilización de materiales cerámicos para aplicaciones biomédicas<sup>[2]</sup>. Estos materiales, según su interacción con el tejido, pueden ser bioinertes, bioactivos o biodegradables. Los primeros no tienen una interacción apreciable al ser implantados, a diferencia de los cerámicos bioactivos, que se unen al hueso sin formación de tejido conectivo entre medio. Un material bioactivo es aquél que origina una respuesta biológica específica en la interfase del material la que resulta en la formación de un enlace entre el tejido y el material. Por último, los biodegradables, que se reabsorben con el tiempo mientras son reemplazados por el tejido natural. Los biocerámicos pueden ser porosos o densos, favoreciendo en el primer caso la interacción biológica.

En 1969, Levitt y col. propusieron por primera vez la utilización de un fosfato de calcio, la fluoroapatita, como material para prótesis ortopédicas [3]. Desde ese momento, los fosfatos de calcio, por su similitud química con los tejidos óseos naturales, encontraron un exitoso campo de aplicación como rellenos óseos o recubrimientos ortopédicos, dentales o maxilofaciales y también como soportes para ingeniería de tejidos [4],[5]. Se conocen distintos fosfatos de calcio que pueden ser utilizados solos o en mezclas para la preparación de diversos biocerámicos (Tabla 1.I). En estos compuestos la relación molar Ca/P es de fundamental importancia dado que influye en sus propiedades, en particular en su solubilidad en agua.

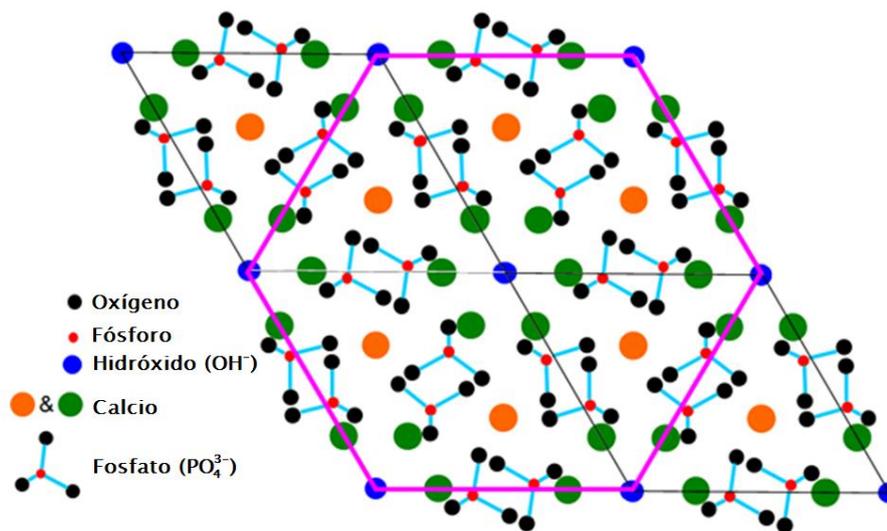
**Tabla 1.I.** Biomateriales de fosfatos de calcio clasificados según su relación Ca/P.

Ca/P	Fórmula	Nombre	Log[Kps] <sup>25°C</sup>	Abrev.
2,0	Ca <sub>4</sub> O(PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Fosfato tetracálcico	38-44	TTCP
1,67	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Hidroxiapatita	58,4	HA
>1,67	Ca <sub>10-x</sub> H <sub>2x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	Fosfato de calcio	--	ACP
1,5	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Fosfato tricálcico (α, β, γ)	25,5-28,9	TCP
1,33	Ca <sub>8</sub> H <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> .5H <sub>2</sub> O	Fosfato octacálcico	9,66	OCP
1,0	CaHPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	Fosfato dicálcico dihidrato	6,59	DCPD
1,0	CaHPO <sub>4</sub>	Fosfato dicálcico anhidro	6,9	DCPA
0,5	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	Fosfato monocálcico monohidrato	Muy soluble	MCPM

La hidroxiapatita (Ca/P=1,67) se describe como un cerámico bioactivo, dado que puede unirse químicamente al hueso, habilidad que le otorga su similitud química y morfológica con la fase mineral del tejido óseo. Este compuesto forma una intercara con una gran resistencia a la fractura.

La estructura de la HA se describe como una red cristalina de simetría hexagonal. La celda unidad es un prisma rómbico recto con una longitud a lo largo de cada arista del plano basal de la celda de  $a=9,432 \text{ \AA}$  y un valor de  $c= 6,881 \text{ \AA}$  con el contenido de la celda dado por la fórmula Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>. El arreglo de estos átomos constituyentes proyectados a lo largo del eje c sobre el plano basal se muestra en la Figura 1.1. El compuesto permite la sustitución

de iones en su estructura, dando como resultado materiales con diferente solubilidad, parámetros de red, morfología, etc.



**Figura 1.1.** Proyección de la estructura cristalina de hidroxiapatita.

La dureza de la HA es de 5 mohs y su densidad de 3,15 g/mL. Su coeficiente de expansión térmica tiene un valor de  $11,6 \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ . Sus propiedades mecánicas son similares a las de los componentes más resistentes del hueso. Así su módulo elástico varía entre 40 y 100 GPa, frente a los 74 GPa del esmalte dental, 21 GPa de la dentina y 12 a 18 GPa del hueso compacto. Sin embargo, su resistencia mecánica, en forma de compactos densos de HA, es del orden de los 100 MPa frente a los 300 MPa del hueso humano, disminuyendo drásticamente dicha resistencia en el caso de compactos porosos. Esta limitación para soportar carga impide que se utilice a la HA como prótesis monolítica de huesos portantes, aunque sí es útil como recubrimiento de prótesis metálicas con una mayor resistencia mecánica, mejorando así la compatibilidad de la pieza e incrementando la adhesión del hueso a la misma<sup>[6]</sup>.

El intercambio de iones fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) y calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) para precipitar más HA en la superficie es el mecanismo conocido de interacción con el hueso, gracias al cual se logra una buena osteointegración<sup>[7],[8]</sup>. Además, la HA exhibe buena compatibilidad con otros tejidos como el epitelial y el muscular<sup>[9]</sup>. Conociendo el carácter piezoeléctrico de los huesos<sup>[10]</sup>, y buscando un mejor desempeño de la HA en la osteointegración, Bodhak<sup>[11]</sup> realizó estudios en donde analizó la mineralización *in vitro* y la proliferación celular sobre muestras de HA

polarizadas durante 2 h a 300-400 °C aplicando 2 kV/cm. Sus resultados mostraron que se podía modular la velocidad de osteointegración con el grado de polarización de las muestras.

Con el objetivo de incrementar la polarizabilidad de la HA, desde mediados de los '90 se comenzó a estudiar la posibilidad de producir biocerámicos compuestos entre HA y materiales piezoeléctricos. Estos trabajos originaron un nuevo campo de estudio donde se busca controlar la piezoelectricidad de materiales biocerámicos ya sea por polarización directa o por combinación con materiales piezoeléctricos convencionales.

### **1.3- Materiales piezoeléctricos**

Cuando un campo eléctrico es aplicado a un material dieléctrico, no ocurre un transporte de carga, sino que se produce un ligero reacomodamiento de las cargas, de modo que se generan dipolos. Así, el material adquiere un momento dipolar, y se dice que el material está polarizado<sup>[12]</sup>.

El valor de la polarización generada en un material dieléctrico por acción de un campo eléctrico aplicado viene dado por:

$$\vec{P} = \chi \varepsilon_0 \vec{E} \quad \text{Ec. (1.1)}$$

donde,  $\vec{P}$  es la polarización inducida en la dirección del campo por unidad de volumen,  $\vec{E}$  es el campo eléctrico externo,  $\chi$  es la susceptibilidad dieléctrica del material y  $\varepsilon_0$  es la constante dieléctrica en el vacío. La polarización también puede ser expresada a través de la permitividad relativa del material ( $\varepsilon_r$ ) y el campo eléctrico aplicado<sup>[12]</sup>:

$$\vec{P} = \varepsilon_0 (\varepsilon_r - 1) \vec{E} \quad \text{Ec. (1.2)}$$

Dentro de los materiales dieléctricos, los cerámicos piezoeléctricos son un tipo de materiales que al ser sometidos a tensiones mecánicas, se logra polarizar el material (efecto directo). A su vez, cuando a un material piezoeléctrico se lo polariza por aplicación de un campo eléctrico, el material sufre una deformación (efecto indirecto). Estos efectos pueden expresarse a través de las ecuaciones constitutivas de la piezoelectricidad aplicadas a los ejes ortogonales i, j, k (Figura 1.2):

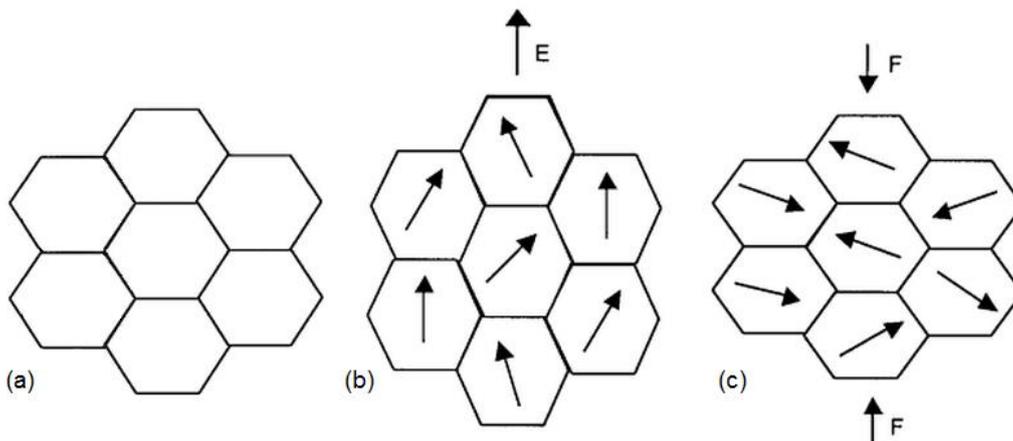
$$P_i = d_{ijk} s_{jk} \quad (\text{Efecto directo}) \quad \text{Ec. (1.3)}$$

donde  $P_i$  es la polarización generada en el eje “i”,  $s_{jk}$  la tensión aplicada y  $d_{ijk}$  el coeficiente piezoeléctrico que los relaciona.

$$e_{ij} = d_{kij} E_k \quad (\text{Efecto indirecto}) \quad \text{Ec. (1.4)}$$

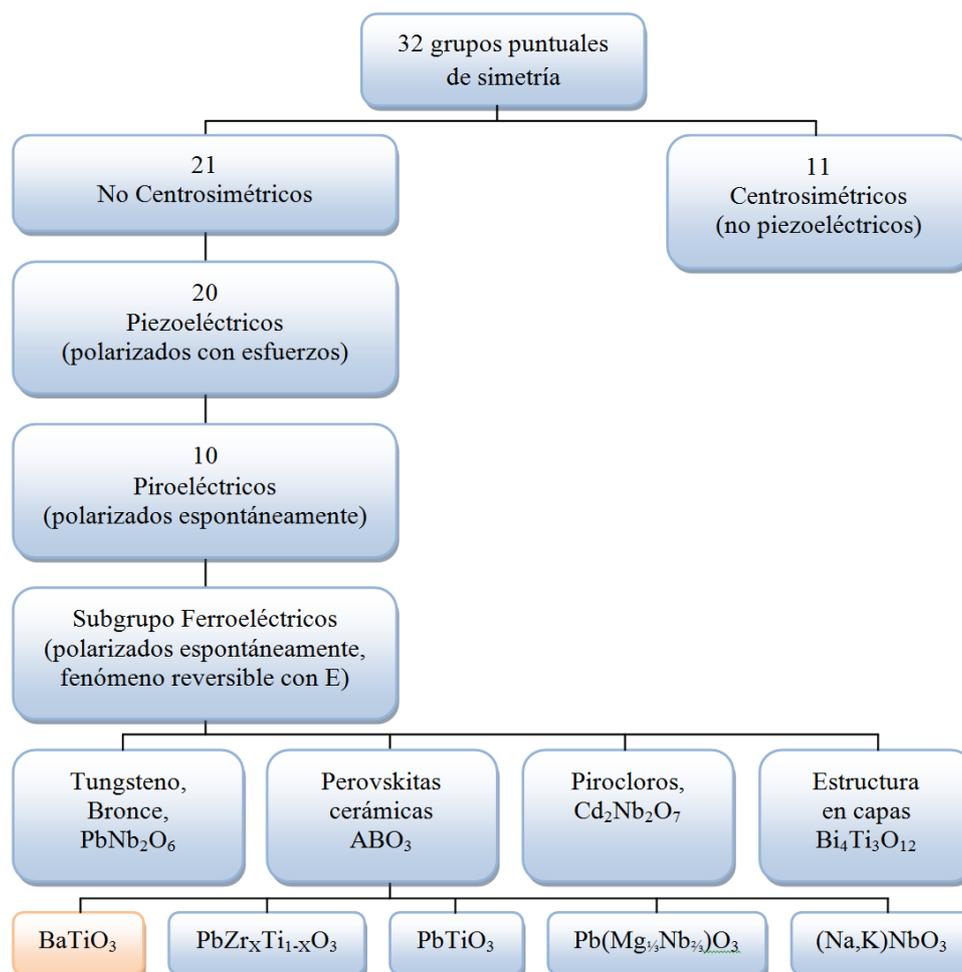
donde  $e_{ij}$  es la deformación generada, y  $E_k$  el campo eléctrico aplicado en la dirección  $k$  [13].

Por convención, el tensor de coeficiente piezoeléctrico ( $d_{ijk}$ ) se define tomando como ejes la dirección de polarización (3) y dos ejes ortogonales (1 y 2). Dentro de las componentes del tensor cabe destacar la componente  $d_{31}$ , coeficiente relacionado al campo a lo largo del eje polar con la deformación perpendicular a él; la componente  $d_{15}$ , que se asocia a las deformaciones de corte; y por último la componente  $d_{33}$ , que es el coeficiente correspondiente al campo y la deformación a lo largo del eje polar. Este último coeficiente es la componente que permite conocer la relación directa entre el campo y la deformación paralela al mismo.



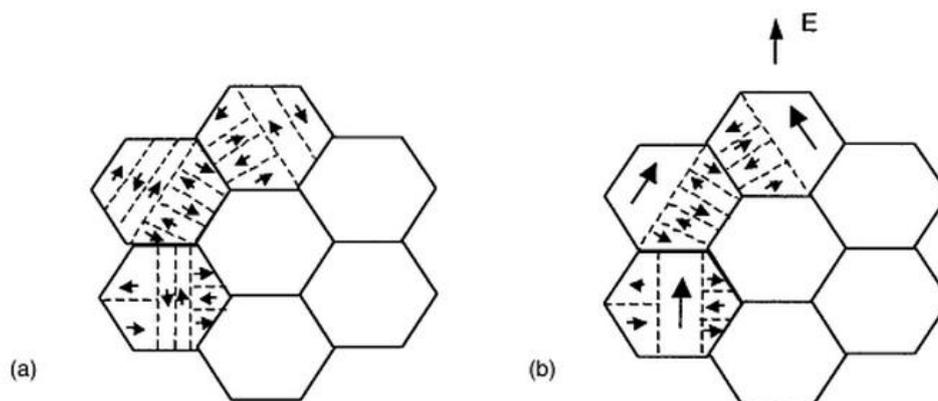
**Figura 1.2.** Esquema del comportamiento de un material piezoeléctrico. (a) Material sin aplicación de tensiones ni campo eléctrico, (b) durante la aplicación del campo  $E$  el material se deforma, (c) durante la aplicación de una fuerza  $F$  que lo deforma, el material se polariza<sup>[12]</sup>.

El fenómeno de la piezoelectricidad se da en materiales cristalinos que carecen de centro de simetría en su estructura cristalina (materiales no centrosimétricos). Debido a esa carencia de centro de simetría, cuando el material es sometido a un esfuerzo, se produce un desplazamiento de iones positivos y negativos que genera una polarización neta en el material. Por encima de una temperatura propia de cada material, su estructura pasa a ser simétrica, y pierde la capacidad de polarizarse, a esta temperatura se la denomina temperatura de Curie. En la Figura 1.3 se esquematizan los grupos puntuales de simetría y su relación con los fenómenos de piezo-ferroelectricidad.



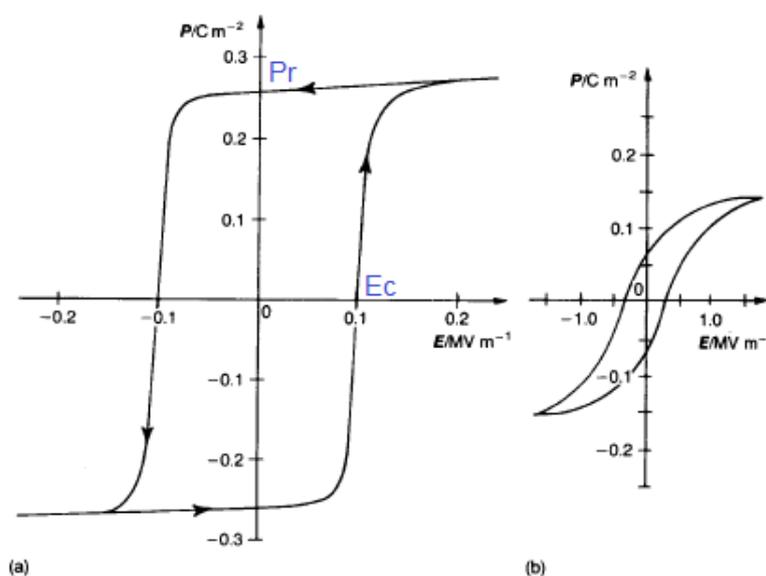
**Figura 1.3.** Esquema de los grupos puntuales de simetría y la relación con los fenómenos de piezo-ferroelectricidad.

Dentro de los cerámicos piezoeléctricos, existe un grupo de materiales con una propiedad en común que son los cerámicos ferroeléctricos. Los materiales cerámicos ferroeléctricos logran un estado de mínima energía mediante la subdivisión de sus granos en dominios. Estos dominios son pequeñas regiones del material donde las celdas que lo conforman poseen un ordenamiento cristalográfico definido, de forma tal que los dipolos de cada celda se encuentran orientados en la misma dirección, y así se forman las pequeñas regiones con una polarización diferente de cero. Las zonas que separan estos dominios se llaman paredes de dominios. Estos dominios tienen la capacidad de reorientarse cuando se aplica un campo eléctrico en el material, alineándose en la dirección cristalina más cercana a la del campo aplicado. De este modo al retirar el campo eléctrico, el material conserva una polarización remanente, debido a la orientación preferencial de los dominios (Figura 1.4).



**Figura 1.4.** Esquema del comportamiento de los dominios cristalinos en un material ferroeléctrico antes (a) y durante la aplicación de un campo eléctrico  $E$  (b). Se observa la reorientación a  $180^\circ$  de los dominios en sentido del campo aplicado <sup>[12]</sup>.

Así, una propiedad característica de la ferroelectricidad es la reversibilidad de su polarización por la aplicación de un campo eléctrico opuesto, dando lugar a una curva característica de estos materiales que es la *curva de histéresis* (Figura 1.5).

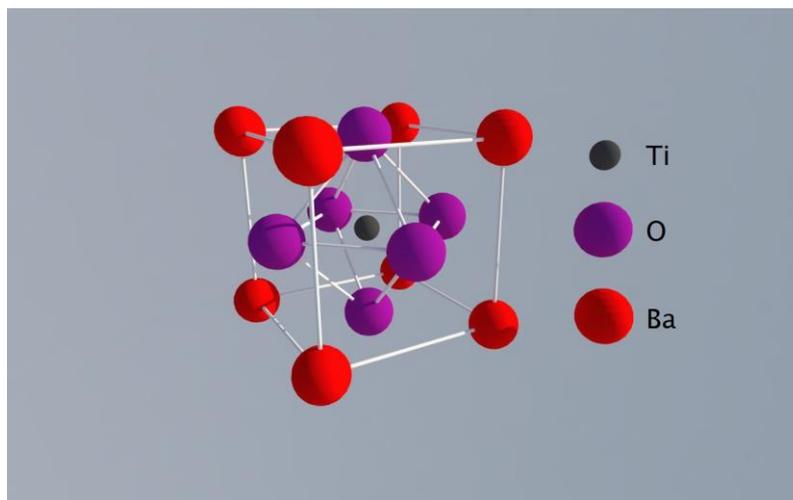


**Figura 1.5.** Curva de histéresis de un material ferroeléctrico ( $\text{BaTiO}_3$ ) (a) monocristalino y (b) policristalino.  $P_r$  es la polarización remanente al retirar el campo  $E$ ,  $E_c$  es el campo coercitivo, necesario para revertir la polarización del material <sup>[12]</sup>.

Dentro de los numerosos materiales piezoeléctricos (Figura 1.3) el  $\text{BaTiO}_3$  es el más atractivo para incorporar en un biomaterial por su composición, en tanto que otros se descartan por su toxicidad.

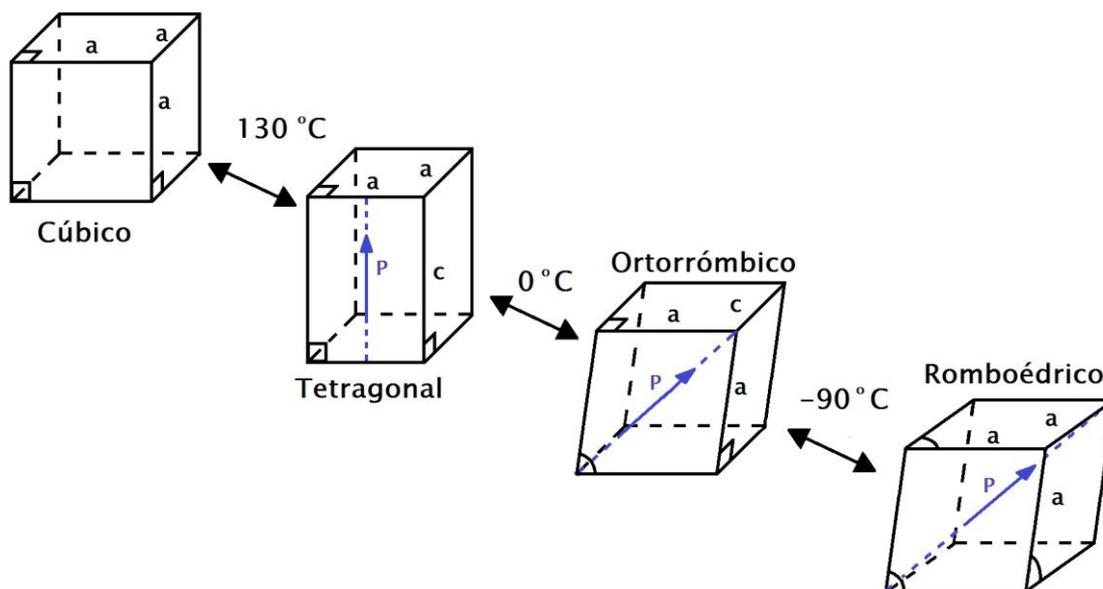
#### 1.4- Cerámicos de Titanato de Bario ( $BaTiO_3$ )

El titanato de bario (BT) es tal vez uno de los materiales ferroeléctricos libres de plomo más conocidos. Su fórmula es  $BaTiO_3$ , y su estructura cristalina es del tipo *perovskita* ( $ABO_3$ ), siendo A y B cationes y O un anión. La estructura consiste en una red cúbica simple de A, con el catión B en la posición  $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$  y los O en posiciones  $(0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$ ,  $(\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2})$  y  $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0)$  como se muestra en la Figura 1.6.



**Figura 1.6.** Celda unidad del BT.

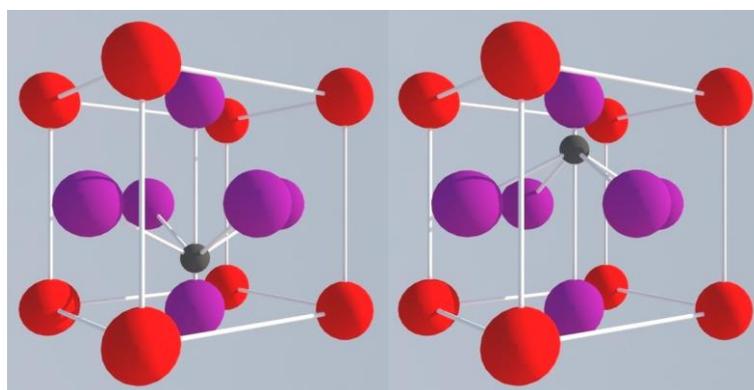
El BT presenta distorsiones de la celda unidad con la temperatura, dando lugar a diferentes estructuras, como se muestra en la Figura 1.7. Por sobre la temperatura de Curie ( $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) el BT es cúbico, por debajo es tetragonal, hasta los  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  que pasa a ser ortorrómbico, y por debajo de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  se transforma en romboédrico.



**Figura 1.7.** Distorsiones de la celda unidad del BT con la temperatura<sup>[12]</sup>.

A temperatura ambiente la ferroelectricidad del BT se debe a la estabilización de la fase tetragonal, en la cual el desplazamiento de los iones titanio dentro del hueco octaédrico de oxígenos da lugar a la formación de los dipolos eléctricos, como se observa en la Figura 1.8.

Un monocristal de BT con un único dominio tiene una permitividad relativa ( $\epsilon_r$ ) a 20 °C de 230 en la dirección polar y de 4770 en las direcciones perpendiculares. En los cerámicos policristalinos debido a la existencia de bordes de grano y a la presencia de poros, la permitividad relativa de bajo campo varía en el rango de 2000 a 4500 <sup>[12]</sup>. Por otro lado, se han obtenido valores de coeficiente piezoeléctrico ( $d_{33}$ ) de BT policristalino de 191 pC/N <sup>[14]</sup>.



**Figura 1.8.** Formación de los dipolos eléctricos por desplazamiento de los iones en el BT.

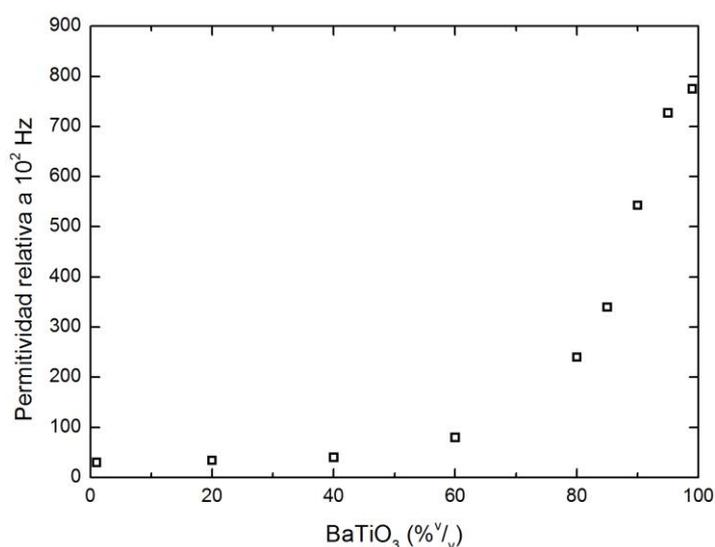
Por ser el BT un piezoeléctrico libre de Pb, seguro, confiable y con relativamente elevadas propiedades dieléctricas, se ha postulado como un candidato posible para aumentar la polarizabilidad de la HA y así modular la velocidad de osteointegración.

### ***1.5- Materiales compuestos hidroxiapatita-titanato de bario***

En 1997, Feng y col.<sup>[15]</sup> implantaron piezas de HA-BT polarizadas en la mandíbula de perros, observando que se promovía significativamente el crecimiento del hueso respecto de los implantes de HA sola. Por otro lado, observaron que el crecimiento óseo dependía de la dirección de la polarización.

En 2002, Hwang y col.<sup>[16]</sup> estudiaron el efecto de la polarización de un sustrato de BT en la formación de una capa de fosfato de calcio (FC) en la superficie. Encontraron que la capa de FC se formó sobre la cara polarizada negativamente, mientras que esta capa no se observó sobre la cara positiva. En este estudio se compararon tres condiciones de polarización diferentes, aunque no se determinó el coeficiente piezoeléctrico ( $d_{33}$ ) de las muestras para analizar su relación con la formación de la capa de FC.

En 2006, Bowen y col.<sup>[17]</sup> estudiaron la relación existente entre la composición y las propiedades dieléctricas de compuestos de HA-BT, y observaron que la incorporación de HA disminuye abruptamente los valores  $\epsilon_r$  y  $d_{33}$ , tal que por debajo de 80% de BT no se obtienen valores significativos de coeficiente piezoeléctrico. En la Figura 1.9 se muestran los valores de  $\epsilon_r$  obtenidos en este estudio.



**Figura 1.9.** Permitividad relativa a 10<sup>2</sup> Hz de los compuestos de HA-BT<sup>[17]</sup>.

En 2009, Baxter <sup>[18]</sup> estudió la proliferación celular sobre muestras con un 90% de BT polarizadas a 130 °C en una corona de polarización mediante la aplicación de un potencial eléctrico de 2500 V con una distancia de 55 mm entre la muestra y la fuente, midiendo un  $d_{33}$  de  $57,8 \pm 10,8$  pC/N. Este trabajo constituye el primer estudio reportado que utiliza células humanas del tipo Saos-2. El estudio muestra una buena compatibilidad del sustrato, tanto de la cara negativa como de la positiva, y además se encuentran similitudes entre el crecimiento celular sobre el compuesto y sobre una muestra de HA comercial sin fase piezoeléctrica. Es importante resaltar que, en ese estudio, no se observaron problemas de citotoxicidad en ninguno de los compuestos analizados.

### ***1.6- Objetivo general y objetivos específicos del trabajo***

El objetivo general de este plan de trabajo es diseñar y obtener materiales compuestos de titanato de bario e hidroxiapatita con respuesta bioactiva potenciada para la regeneración de tejido óseo.

Los objetivos específicos que se plantean para contribuir al objetivo general son:

1. Sintetizar titanato de bario ( $BaTiO_3$ ) mediante activación mecanoquímica y reacción en estado sólido.
2. Sintetizar polvo de hidroxiapatita por precipitación química asistida por ultrasonido.
3. Caracterizar los materiales obtenidos morfológica y estructuralmente mediante difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido y microespectroscopía Raman.
4. Formular y obtener materiales compuestos en discos mediante los procesos de mezcla, prensado y sinterizado, partiendo de polvos de BT y de HA tanto comerciales como sintéticos.
5. Analizar la influencia de la composición y la porosidad resultante sobre la microestructura, las propiedades dieléctricas y piezoeléctricas del material final.
6. Evaluar el comportamiento de los materiales compuestos en ensayos biológicos de citotoxicidad y correlacionar su reactividad con la estructura y composición del material.

## 2.- Parte experimental

### 2.1- Materiales

Se utilizaron materiales en polvo de Hidroxiapatita (HA) y de BaTiO<sub>3</sub> (BT) comerciales y sintéticos. En la Tabla 2.I se presenta el proveedor para los polvos de origen comercial, y el método de síntesis utilizado para la obtención de los materiales sintéticos.

**Tabla 2.I.** Origen y nomenclatura de los materiales utilizados en el desarrollo de los materiales compuestos.

	Materiales comerciales	Materiales sintéticos
BT	( <b>cBT</b> ) Transelco Division, Ferro Corporation	( <b>sBT</b> ) Activación mecanoquímica y reacción en estado sólido.
HA	( <b>cHA</b> ) Aldrich	( <b>sHA</b> ) Precipitación química asistida por ultrasonido.

#### 2.1.1- Síntesis de titanato de bario (sBT)

En la síntesis de BaTiO<sub>3</sub> se llevó a cabo la activación mecanoquímica de los reactivos (TiO<sub>2</sub> *Degussa P25* de pureza mayor al 99,5% y BaCO<sub>3</sub> *Mallinckrodt 3736* de pureza 99,7%) en un molino planetario durante 5 horas en medio alcohólico a 890 rpm. La mezcla resultante fue secada y calcinada a 1000 °C durante 2 h para producir la fase BaTiO<sub>3</sub> libre de fases secundarias. El material resultante se molió nuevamente para reducir la presencia de aglomerados obteniéndose el material sBT.

#### 2.1.2- Síntesis de hidroxiapatita (sHA)

Para obtener HA se utilizaron como reactivos de partida, una solución de ácido ortofosfórico que se agregó sobre una suspensión amoniacal de CaO, hasta alcanzar una relación molar Ca/P = 1,67. Se empleó un equipo Sonics vibra-cell, VCX 130, para realizar la agitación de la mezcla de reacción. La irradiación ultrasónica causa cavitación provocando la formación, crecimiento y colapso de microburbujas. Este intenso proceso de agitación da lugar a eventos de disolución-precipitación de sólidos a través de los cuales se logra una reducción del tamaño de partícula y una activación superficial de las partículas. Posteriormente, el

precipitado obtenido fue filtrado y secado en estufa a 60 °C durante 24 h obteniéndose el material sHA.

## **2.2- Métodos**

### **2.2.1- Preparación de las mezclas HA y BT.**

De cada composición se prepararon mezclas de aproximadamente 6 g, utilizando una balanza analítica para pesar cada componente. Luego se mezclaron durante 10 min en molino planetario a 890 rpm (Fritsch Planetary Micro Mill Pulverisette 7) en recipientes de zirconia, con 4 bolas de zirconia, utilizando como solvente 10mL de alcohol isopropílico. Luego se secaron en estufa a 80 °C durante 24 h.

### **2.2.2- Conformado de las pastillas**

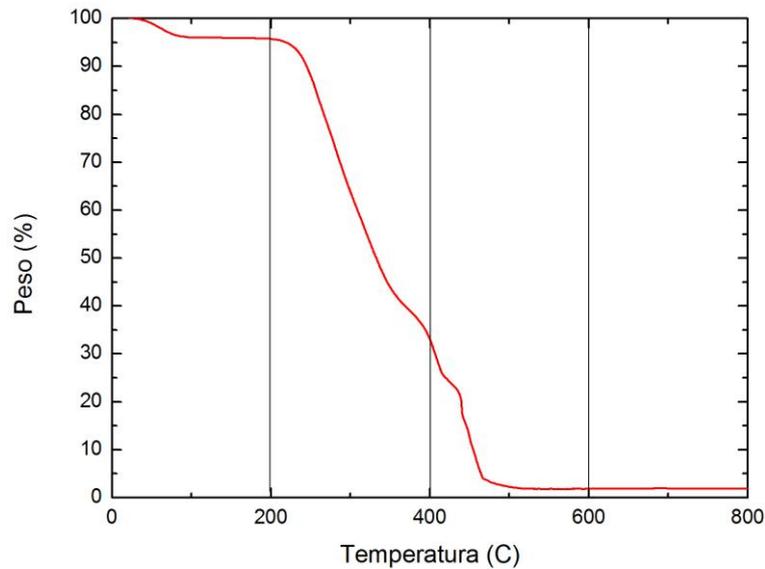
Se conformaron pastillas de 1 mm de espesor mediante la técnica de prensado uniaxial, con moldes de 6 y 12 mm de diámetro. Para los sistemas que contenían BaTiO<sub>3</sub> se hizo necesario añadir un ligante orgánico, para lo cual se disolvieron 0,3 mg de PVA (Baker) en 50 mL de H<sub>2</sub>O destilada, y se agregaron 3 gotas de la suspensión al polvo de cada pastilla. Las pastillas se prensaron a 100 bar en una prensa hidráulica manual (Carver Laboratory Press).

### **2.2.3- Eliminación del ligante orgánico**

Se realizó un análisis termogravimétrico (ATG) a una muestra de PVA para determinar la temperatura de descomposición del mismo y así definir la curva de calentamiento para ser aplicada en la eliminación del ligante orgánico en las muestras compactadas.

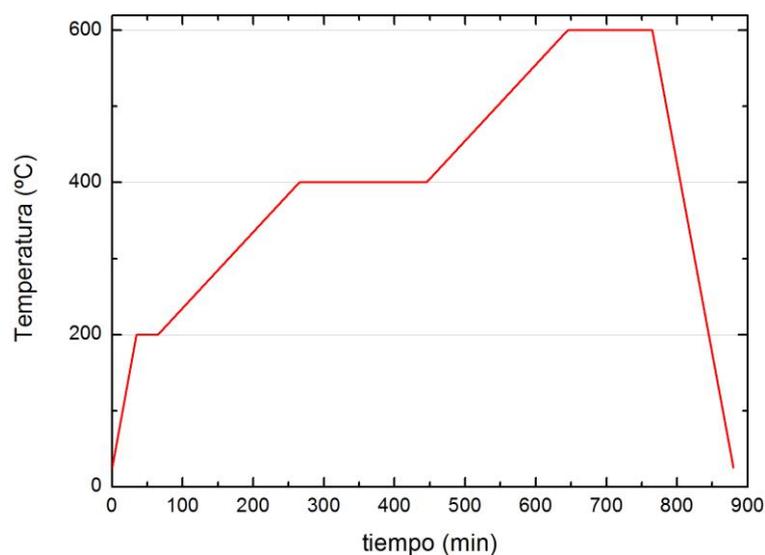
El ATG es un análisis utilizado para medir el cambio de masa de una sustancia en función de la temperatura o el tiempo. La muestra, generalmente de unos pocos mg es calentada a velocidad constante, y presenta una masa invariable hasta una determinada temperatura a la cual empieza a descomponerse el propio material o alguna fase que lo componga.

Se utilizó un equipo Shimadzu TGA-50 y se realizaron ensayos dinámicos variando la temperatura a velocidad constante (10 °C/min). Se registró la masa de la muestra en función de la temperatura hasta 800 °C en aire. Con esta técnica fue posible determinar el rango de temperatura en la cual se produce la descomposición del PVA.



**Figura 2.1.** Análisis termogravimétrico de una muestra de PVA.

Teniendo en cuenta el ATG de la Figura 2.1, se decidió realizar el siguiente tratamiento a las muestras compactadas: calentamiento a 5 °C/min desde temperatura ambiente hasta 200 °C, temperatura que se mantuvo durante 30 min; luego se continuó calentando a 1 °C/min hasta 400 °C, temperatura que se mantuvo por 3 h; luego se continuó a la misma velocidad hasta 600 °C, temperatura que se mantuvo por 2 h; finalmente se dejó enfriar a 5 °C/min. En la Figura 2.2, se esquematiza el ciclo de calcinación de las muestras.



**Figura 2.2.** Ciclo térmico para la eliminación del ligante orgánico en los discos compactados

### 2.2.4- Proceso de sinterizado

Se estudiaron dos temperaturas de sinterización, 1250 °C y 1300 °C, con el objetivo de evaluar la densificación de los compuestos. El proceso se realizó en atmósfera de aire mediante un calentamiento a 3 °C/min, hasta la temperatura máxima, manteniendo esa temperatura durante 2 h, y luego un enfriamiento hasta temperatura ambiente a 3 °C/min. En todos los casos las pastillas fueron dispuestas sobre un lecho de polvo de la misma composición para evitar contaminación con el soporte de alúmina.

### 2.2.5- Medición de densidad

Una vez realizado el proceso de sinterizado, se procedió a acondicionar las superficies de las muestras para eliminar el resto de polvo adherido. Posteriormente, se midió la densidad mediante el método de Arquímedes en agua destilada, utilizando una balanza Sartorius, registrando la masa en aire y sumergida de las pastillas, y calculando la densidad aparente según la siguiente ecuación:

$$\rho_{ap} = \frac{W_{aire} \cdot \rho_{agua}}{(W_{aire} - W_{sum})} \quad \text{Ec. (2.1)}$$

siendo  $\rho_{ap}$  la densidad aparente de la pastilla sinterizada,  $W_{aire}$  la masa de la pastilla en aire,  $W_{sum}$  la masa de la pastilla sumergida y  $\rho_{agua}$  la densidad del agua destilada a la temperatura de trabajo.

A partir de este método fue posible calcular la porosidad de las muestras, utilizando la densidad teórica calculada según la regla de las mezclas ideales, tomando como datos las densidades teóricas de los polvos de partida.

$$\%P = 100 \left( 1 - \frac{\rho_{aparente}}{\rho_{teórica}} \right) \quad \text{Ec. (2.2)}$$

### 2.2.6- Caracterización por Difracción de Rayos X (DRX)

Las estructuras cristalinas de las muestras sinterizadas se identificaron mediante difracción de rayos X. Con esta técnica fue posible confirmar la formación de la fase buscada así como detectar la presencia de fases secundarias. En un experimento de difracción, una onda incidente es dirigida hacia el material y un detector recoge la información de la onda difractada. De esta forma se registra un patrón de difracción. Para que ocurra difracción, la onda electromagnética debe encontrarse con una serie de obstáculos regularmente espaciados que sean capaces de reflejar una onda y que tengan un espaciado entre átomos comparable en magnitud al de la onda. La difracción será consecuencia de una específica relación de fases establecidas entre dos o más ondas que han sido reflejadas por los obstáculos. La dirección de difracción se basa en la Ley de Bragg. Cuando rayos X son reflejados por los átomos en un grupo de planos cristalinos un máximo ocurrirá cuando se cumpla la Ley de Bragg:

$$n \lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Ec. (2.3)}$$

Donde,

n es el orden de la difracción que se toma igual a uno.

$\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X,

d es la distancia entre los planos de la red cristalina y,

$\theta$  es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de difracción.

El patrón de difracción presentará picos en distintos valores de ángulos, que están asociados a diferentes espaciados interplanares. A partir de las estructuras cristalográficas que relacionan el sistema cristalino con el espaciado interplanar es posible asociar cada pico con el plano correspondiente. De esta forma es que los patrones de difracción presentan información inherente de la estructura cristalina de cada sustancia cristalina. La base de datos (JCPDS) presenta los patrones de difracción característicos de las distintas sustancias cristalinas. A partir de la comparación del patrón obtenido con los patrones de la base de datos es posible identificar las fases cristalinas presentes. El equipo de difracción utilizado en este caso fue un PANalytical, X'pert Pro. Se utilizó una radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$ ).

### **2.2.7- Caracterización por microespectroscopía Raman**

El efecto Raman está asociado a la dispersión inelástica de luz por parte de la materia. Cuando una molécula se excita con luz de frecuencia  $\nu$ , la mayor parte de ésta resulta dispersada en forma elástica, sin cambios en frecuencia (efecto Rayleigh). Una pequeña fracción se dispersa en forma inelástica, con cambios respecto de la frecuencia original (efecto Raman); dichos desplazamientos son característicos de los modos vibracionales (particularmente los simétricos) de la especie dispersante, e independientes de la frecuencia incidente. Un espectro Raman consiste en el registro de la intensidad de luz dispersada en forma inelástica en función del desplazamiento en frecuencia respecto a la original de excitación. De este modo, la espectroscopía Raman proporciona información química y estructural de casi cualquier material o compuesto orgánico o inorgánico permitiendo así su identificación. Se utilizó un equipo Renishaw in Via Raman Microscope, con un láser de iones Ar de 514 nm y rendijas de difracción de 2400 líneas por milímetro. En algunos casos se utilizó esta técnica para identificar la estructura de BT presente, ya que la presencia de picos a 725 y 311  $\text{cm}^{-1}$  es típica de BT tetragonal.

### **2.2.8- Caracterización por Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)**

En los sólidos, los átomos vibran a frecuencias desde  $10^{12}$  a  $10^{13}$  Hz aproximadamente. Los modos vibracionales, que involucran pares de grupos de átomos unidos, pueden ser excitados a estados de energías más altos por absorción de radiación de una frecuencia apropiada. En la técnica de infrarrojo (IR), la frecuencia de radiación incidente se varía, y se obtiene la cantidad de radiación absorbida o transmitida por la muestra. El espectro para sólidos es usualmente complejo y presenta un gran número de picos, los cuales corresponden cada uno a una transición vibracional específica. Así, los espectros obtenidos identifican grupos funcionales y uniones covalentes (grupos hidroxílicos, agua retenida y oxianiones).

Las muestras se analizaron a temperatura ambiente usando como fondo aire en un espectroscopio de infrarrojo con transformada de Fourier, FTIR, Nicolet 6700, Thermo Scientific. Se utilizó el modo de reflexión para analizar las muestras sinterizadas y el modo de transmisión para muestras en estado líquido.

### **2.2.9- Caracterización por Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una técnica utilizada, en principio, para observar superficies de especímenes con una resolución de hasta 1 nm. Cuando la superficie es irradiada con un haz de electrones van a suceder varios fenómenos. Parte de los electrones se transmiten, absorben y reflejan. De la superficie saldrán también electrones Auger, electrones secundarios y rayos X. Los electrones secundarios serán mayores en número pero energéticamente menores que los reflejados. Los electrones secundarios corresponden a electrones de valencia emitidos por los átomos de la muestra. Como su energía es muy pequeña, sólo los electrones de los átomos superficiales serán emitidos fuera de la muestra. Esto quiere decir que los electrones secundarios son muy sensitivos a la superficie. Cuando un haz de electrones entra perpendicularmente a la superficie la cantidad de electrones secundarios emitidos será menor que si el haz impacta de forma oblicua. Por lo tanto la diferencia en brillo de la estructura cristalina se debe a la diferencia en el ángulo de incidencia del haz de electrones. Utilizando un detector de electrones secundarios es posible atraerlos, hacer que impacten en un centellador, dirigir esta señal lumínica y transformarla en una señal eléctrica, amplificar la señal y registrarla de forma sincrónica con el escaneo de la muestra. De esta forma será posible registrar una imagen superficial de la zona irradiada.

En este trabajo se utilizó un microscopio electrónico JEOL 6460LV para el análisis de las muestras. Se observaron superficies de fractura y en algunos casos superficies pulidas a espejo, utilizando una pulidora y pasta de alúmina, y tratadas térmicamente a 50 °C por debajo de la temperatura de sinterizado, durante 20 min. Dado que las muestras observadas son dieléctricas, se las recubrió con una pequeña lámina de oro mediante Electron Beam Physical Vapor Deposition (EBPVD).

### **2.2.10- Caracterización por Dispersión de energías de Rayos-X (EDS)**

Cuando un haz de electrones suficientemente acelerado impacta sobre la superficie de un sólido, pueden producirse dos clases de fenómenos. Por un lado, tiene lugar la re-emisión electrónica a partir de electrones retrodispersados y electrones secundarios. Por otro lado, se produce la radiación X característica de todos los elementos presentes en la muestra bombardeada. La detección de los rayos X generados por el volumen del material permite realizar el análisis elemental cualitativo de la muestra.

En este trabajo se utilizó una microsonda EDAX Genesis XM4 - Sys 60, equipado con analizador multicanal EDAX mod EDAM IV, detector de zafiro Si(Li) y ventana de Be súper ultra delgada, y software EDAX Genesis versión 5.11.

### 2.2.11- Medición de propiedades dieléctricas ( $\epsilon'$ y $\epsilon''$ )

El comportamiento dieléctrico fue estudiado sobre los discos a través de Espectroscopía de Impedancia. Las muestras fueron sometidas a un campo de frecuencia variable en el rango de frecuencias que va de 1 a  $10^5$  Hz (Hioki 3522-50), y de  $10^5$  a  $10^7$  Hz (Hioki 3535) y se registró la capacidad ( $C_p$ ) y la tangente de pérdida ( $\tan(\delta)$ ). El registro se realizó a temperatura ambiente. En todos los casos se empleó como portamuestras una celda Novocontrol BDS 1200. Con la geometría de las pastillas se calcularon la parte real ( $\epsilon'$ ) y la parte imaginaria ( $\epsilon''$ ) de la permitividad mediante las ecuaciones:

$$\epsilon' = \frac{e}{(\epsilon_0 \cdot A)} C_p \quad \text{Ec. (2.4)}$$

y

$$\epsilon'' = \epsilon' \cdot \tan(\delta) \quad \text{Ec. (2.5)}$$

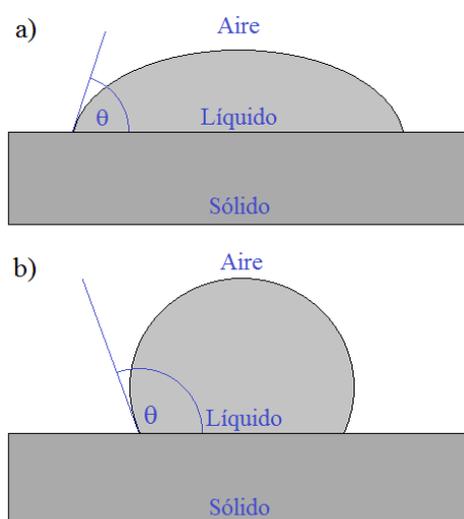
Siendo  $e$  el espesor y  $A$  el área de la pastilla,  $\epsilon_0$  la permitividad del vacío,  $C_p$  la capacidad de la muestra y  $\tan(\delta)$  la tangente de pérdida.

### 2.2.12- Medición de la constante piezoeléctrica ( $d_{33}$ )

Las muestras fueron polarizadas previamente a la determinación de la constante piezoeléctrica. Para ello, se las sometió a un campo eléctrico continuo de 2160 V/mm durante 20 min en baño de aceite de silicona a 140 °C. La constante piezoeléctrica  $d_{33}$  fue determinada utilizando un equipo  $d_{33}$  Test Meter Sinoceramics, Inc. Para la determinación de la constante piezoeléctrica se aplica una fuerza de baja frecuencia. La respuesta eléctrica es procesada y comparada a la de una muestra de referencia lo que permite la lectura directa de la constante piezoeléctrica ( $d_{33}$ ).

### 2.2.13- Medición del ángulo de contacto

Con el objetivo de relacionar el grado de polarización con las características de la superficie de las muestras, se realizaron mediciones del ángulo de contacto mediante el método de la gota sésil o yacente. En este método se coloca una pequeña gota de líquido (50  $\mu\text{L}$ ) sobre la superficie sólida y se observa la forma de la gota, midiendo el ángulo interno en el punto de contacto sólido, líquido, aire, como se muestra en la Figura 2.3. A este ángulo se lo denomina ángulo de contacto ( $\theta$ ) y se lo relaciona directamente con la mojabilidad de la superficie. Así, a menor ángulo, se dice que la mojabilidad es mayor, y a mayor ángulo, se dice que la mojabilidad es menor.



**Figura 2.3.** Definición del ángulo de contacto  $\theta$ : **a)** la gota “moja” el sustrato,  $\theta < 90^\circ$ ;  
**b)** la gota “no moja” el sustrato,  $\theta > 90^\circ$ .

La medición se realizó con un goniómetro Ramé-Hart modelo 500 *Advanced Contact Angle Goniometer*, que mediante el programa *DROP image Advanced Software* ajusta el perfil de la gota y permite medir con un tiempo controlado.

En este estudio, se realizaron 150 mediciones cada 2 s, buscando obtener un valor de  $\theta$  de equilibrio, que es el valor que se debe utilizar para calcular la energía superficial. Dado que los tiempos para llegar al equilibrio fueron mayores a cinco minutos, se estandarizaron todas las mediciones en un tiempo de 100 s para reportar el valor del ángulo de mojado y así evitar problemas de evaporación del solvente. Se usaron agua y diiodometano como solventes, polar y no polar, respectivamente.

### 2.2.14- Estudio de citotoxicidad

Para evaluar la biocompatibilidad de las muestras se realizó un estudio de citotoxicidad de los productos de disolución de las mismas. Para ello se utilizaron embriones de pez cebra (*Danio rerio*) debido a las ventajas que poseen estos últimos como modelo experimental *in vivo* alternativo a los modelos corrientes. Entre ellas, su disponibilidad universal, relativo bajo costo, rápido desarrollo y crecimiento, y adecuación a normas éticas vigentes para el uso de animales de experimentación <sup>[19],[20]</sup>.

Se realizó la incubación de micropartículas de cada muestra en medio embrionario con una concentración de 1% p/v (solución fisiológica de Hanks al 10%, pH 7) durante 7 días en un agitador orbital a 37 °C para obtener los productos de disolución. Los extractos fueron centrifugados y filtrados con filtro de 0,22 µm. En algunos extractos fue necesario ajustar el pH a 7.

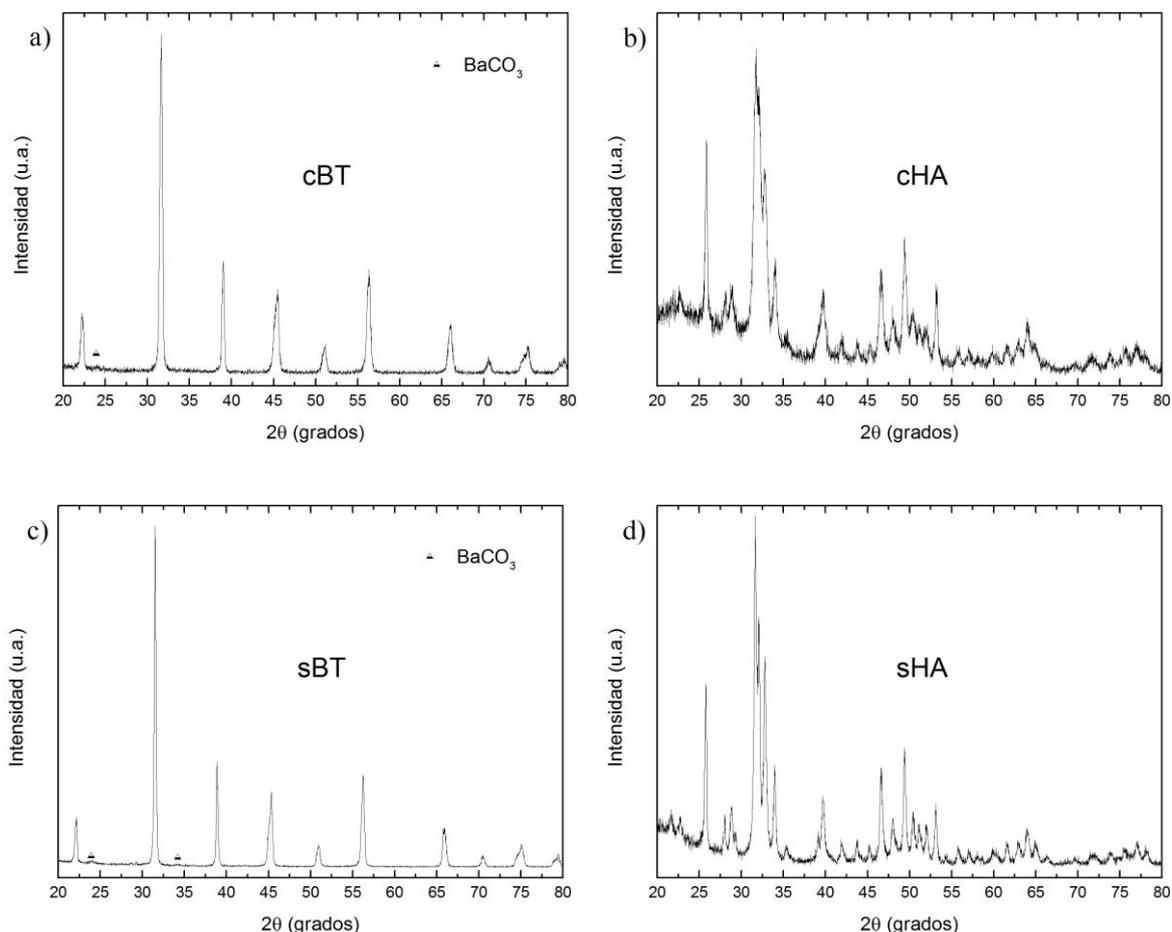
Posteriormente, se incubaron embriones de pez cebra (48 h post fecundación previamente decorionados) a 28,5 °C en placas de 6 pocillos durante 72 h en medio embrionario (control) o medio embrionario enriquecido con los productos de disolución de cada una de las muestras. El seguimiento de los embriones se realizó cada 24 h y se determinó el porcentaje de mortalidad para cada tiempo considerado. Para finalizar el experimento, los embriones fueron anestesiados con Tricaina y fijados en paraformaldehído al 4% en PBS. Los ensayos se realizaron por duplicado con un n=20 embriones por cada muestra.

Con este ensayo pudo determinarse la biocompatibilidad de los diversos materiales estudiados.

### 3.- Resultados y Discusión

#### 3.1- Caracterización de los materiales de partida

Los materiales utilizados en este trabajo fueron caracterizados mediante Difracción de rayos X con el objeto de identificar las fases presentes en los mismos. La Figura 3.1 muestra los espectros obtenidos.

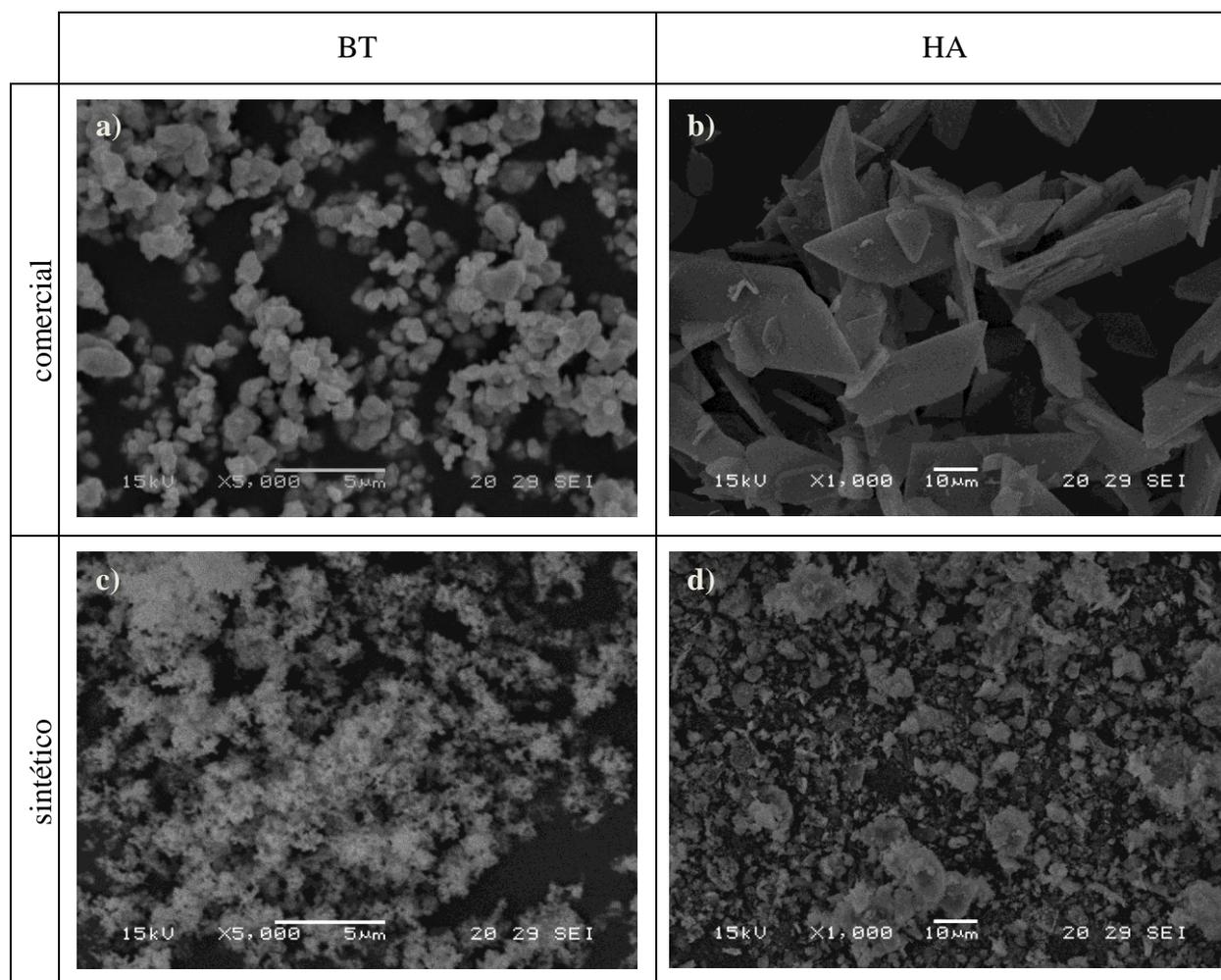


**Figura 3.1.** Espectros de DRX de **a)** BT comercial (cBT), **b)** HA comercial (cHA), **c)** BT sintetizado (sBT) mediante reacción en estado sólido y **d)** HA sintetizada (sHA) a través del método de precipitación.

En los espectros de materiales de BT, se observa que tanto el polvo de origen comercial como el sintético presentan una fase cristalina de BT que se corresponde con la ficha JCPDS 01-075-1169, y se identifican trazas de  $\text{BaCO}_3$  en sBT (JCPDS 00-001-0506), remanentes del proceso de síntesis del  $\text{BaTiO}_3$ . Los materiales de HA, presentaron ambos las señales correspondientes a una fase de hidroxiapatita según la ficha JCPDS 01-073-0294. Sin embargo, en estos espectros se observa una diferencia en el ancho de los picos atribuible a la

variación en el tamaño de los cristales presentes en las muestras, producto de la diferente relación molar Ca/P en las mismas y al diferente grado de cristalinidad.

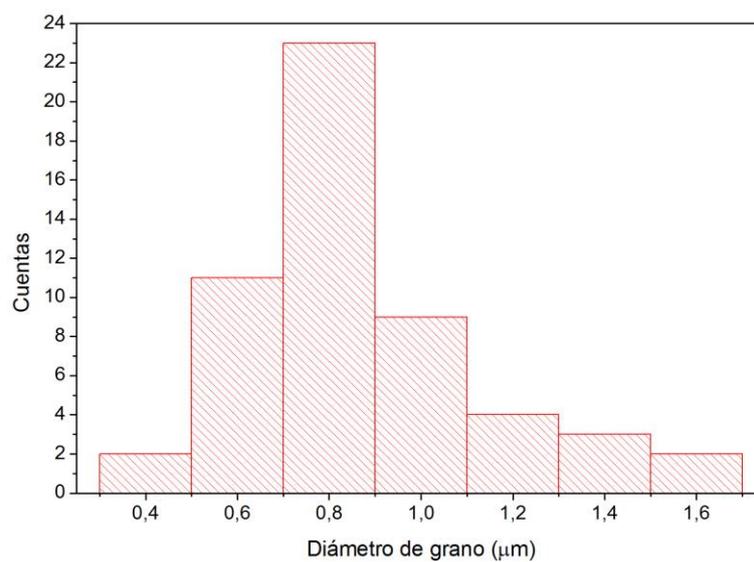
Además, se caracterizó la morfología y tamaño de partículas de los polvos de partida mediante microscopía electrónica de barrido. Las imágenes obtenidas para las cuatro muestras se presentan en la Figura 3.2.



**Figura 3.2.** Imágenes SEM de las muestras **a)** cBT , **b)** cHA, **c)** sBT y **d)** sHA

Las micrografías del BT tanto comercial como sintético se presentan con una ampliación de 5000 aumentos. El tamaño de grano de BT comercial es de  $0,9 \pm 0,3 \mu\text{m}$ , presentando una distribución asimétrica como se muestra en la Figura 3.3, obtenida de la medición de 54 partículas. Se aprecia que el tamaño de partícula del polvo de BT sintético es mucho menor y no se pudo obtener un diámetro medio de partícula porque resultó difícil de cuantificar por esta técnica.

Las imágenes de HA se presentan con una ampliación menor de 1000 aumentos. La HA comercial presenta una morfología de cristales tipo placas, con un espesor de  $2,1 \pm 0,4 \mu\text{m}$ , en forma de rombos, con lados del orden de los  $40 \mu\text{m}$ . Es notoria la diferencia con las características morfológicas de la HA sintética, que presenta un tamaño de partícula sensiblemente menor. Cabe destacar que en el material de HA sintética no se observa la morfología de cristales tipo placas, aunque se observa la formación de aglomerados (del orden de  $10\text{-}15 \mu\text{m}$ ) como consecuencia de la alta energía superficial de las partículas de menor tamaño.



**Figura 3.3.** Distribución de tamaño de partículas del polvo de BT comercial.

### 3.2- Materiales compuestos a partir de polvos comerciales (cHA, cBT)

Partiendo de los polvos comerciales de HA y BT se prepararon muestras con los siguientes porcentajes en volumen de BT: 0, 80, 85, 90, 95 y 100 %. La nomenclatura utilizada se presenta en la Tabla 3.I.

**Tabla 3.I.** Materiales compuestos obtenidos en la serie comercial.

%v/v BT	0	80	85	90	95	100
Muestra	cHA	cc80	cc85	cc90	cc95	cBT

De esta serie se prepararon dos conjuntos de muestras, unas sinterizadas a 1250 °C y otras a 1300 °C durante 2 h, con el objeto de analizar el efecto de la temperatura sobre la estabilidad del sistema.

#### 3.2.1- Medidas de densidad

A continuación se presentan los valores de densidad obtenidos para ambas series de muestras (Tabla 3.II).

**Tabla 3.II.** Valores de densidad y porosidad porcentual de las muestras de la serie comercial.

	Material	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Densidad teórica*	Porosidad %
1250°C	cHA	2,83	3,15	10,2
	cc80	5,18	5,44	4,8
	cc85	5,15	5,58	7,8
	cc90	5,47	5,73	4,5
	cc95	5,46	5,87	7,0
	cBT	5,75	6,02	4,4
1300°C	cHA	2,84	3,15	9,8
	cc80	5,10	5,44	6,3
	cc85	5,24	5,58	6,2
	cc90	5,48	5,73	4,4
	cc95	5,44	5,87	7,4
	cBT	5,76	6,02	4,3

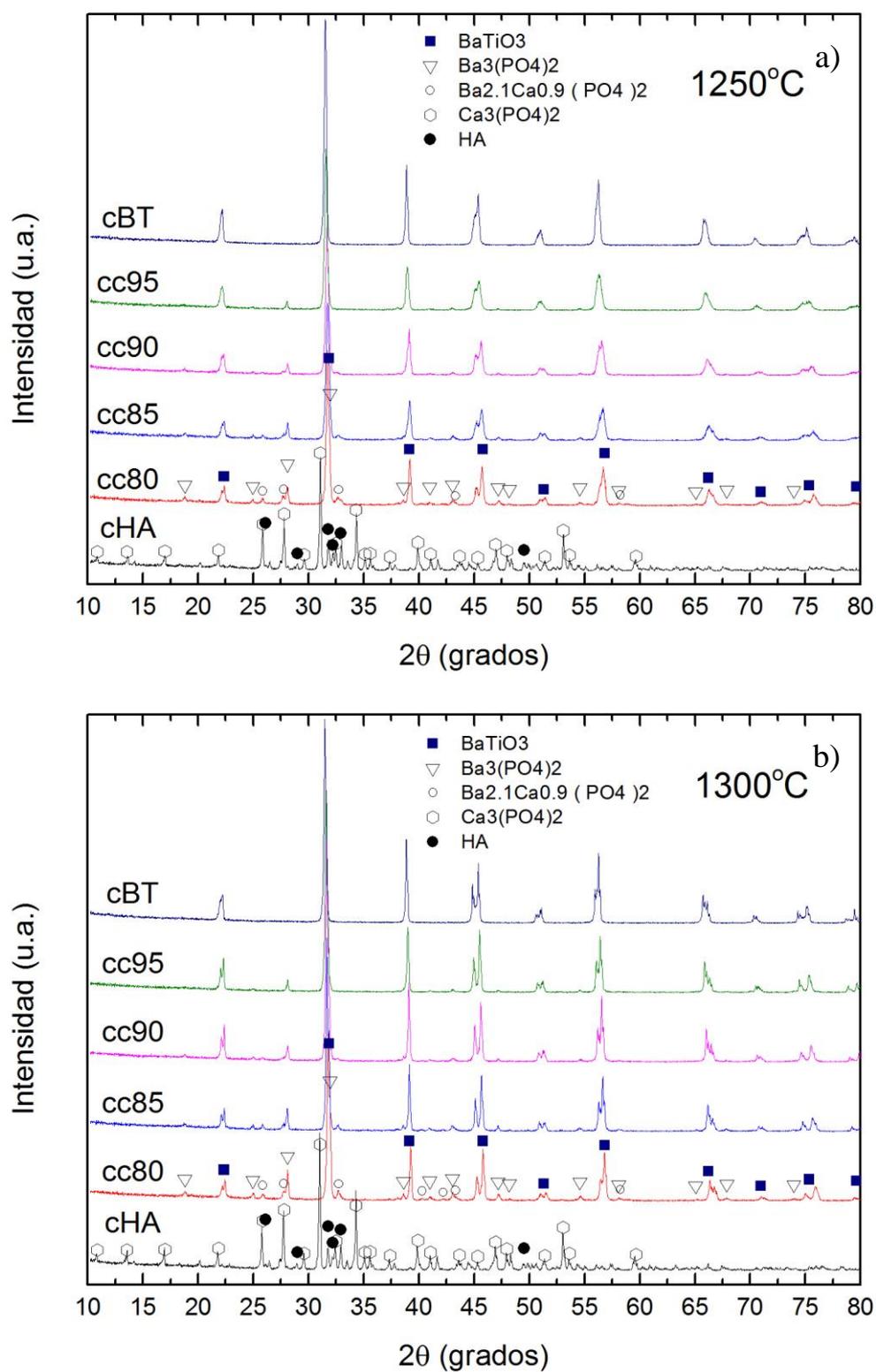
\*la densidad teórica se calculó considerando que el material está compuesto por HA y BT puros, aunque éstas no son las únicas fases que componen las muestras.

A partir de los valores experimentales obtenidos, se puede indicar que no existen variaciones relevantes entre los valores de densidad de las muestras sinterizadas a 1250 °C y 1300 °C. Asimismo, no se observa una clara tendencia en cuanto al efecto del contenido de BT sobre la densidad final de los compuestos.

### 3.2.2- Caracterización por DRX

Al analizar los espectros de DRX de esta serie (Figura 3.4), se puede observar que al incorporar mayores cantidades de HA a la mezcla se produce un corrimiento de los picos característicos del BT hacia mayores valores de  $2\theta$ , correspondientes a menores valores de espaciado interplanar. Esta variación se asocia a la sustitución de iones  $Ba^{2+}$  por iones  $Ca^{2+}$  (de menor tamaño) en la estructura del BT. También se observa la descomposición de la fase HA en  $\beta$ -TCP (fosfato tricálcico ortorrómbico, ficha JCPDS 01-070-2065). Se identifican como fases secundarias al fosfato de bario,  $Ba_3(PO_4)_2$  (ficha JCPDS 00-025-0028) y fosfato de bario y calcio,  $Ba_{2,1}Ca_{0,9}(PO_4)_2$  (ficha JCPDS 00-024-0092), entre otras.

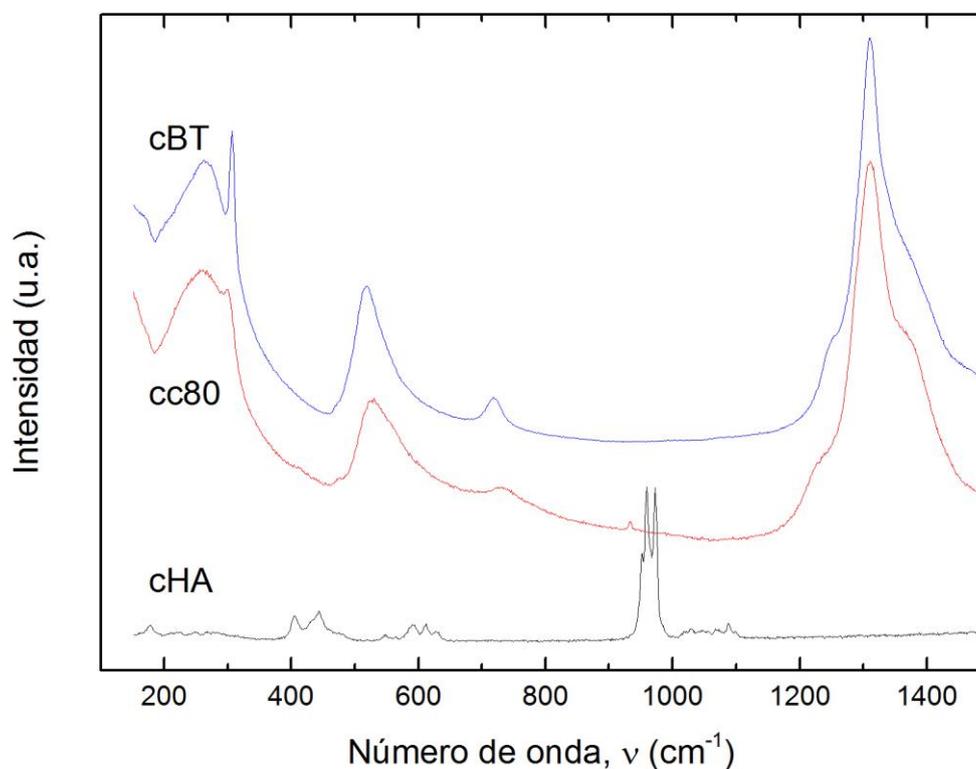
Al incrementar la temperatura se observa un aumento en el desdoblamiento de las señales características del BT a 45°. Dado que este desdoblamiento se correlaciona con un mayor grado de tetragonalidad del BT, se infiere que la mayor temperatura de sinterización favoreció el incremento de esta fase. Teniendo en cuenta que la fase tetragonal presenta un comportamiento ferroeléctrico y piezoeléctrico, se seleccionó la temperatura de 1300°C como temperatura de sinterizado para las siguientes series de muestras.



**Figura 3.4.** Espectros de DRX de las muestras de la serie cHA/cBT sinterizadas. **a)**  $1250^\circ\text{C}$ ; **b)**  $1300^\circ\text{C}$

### 3.2.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman

Se realizaron análisis mediante microespectroscopía Raman sobre las muestras correspondientes a la serie comercial sinterizada a 1300 °C. Los resultados se muestran en la Figura 3.5.

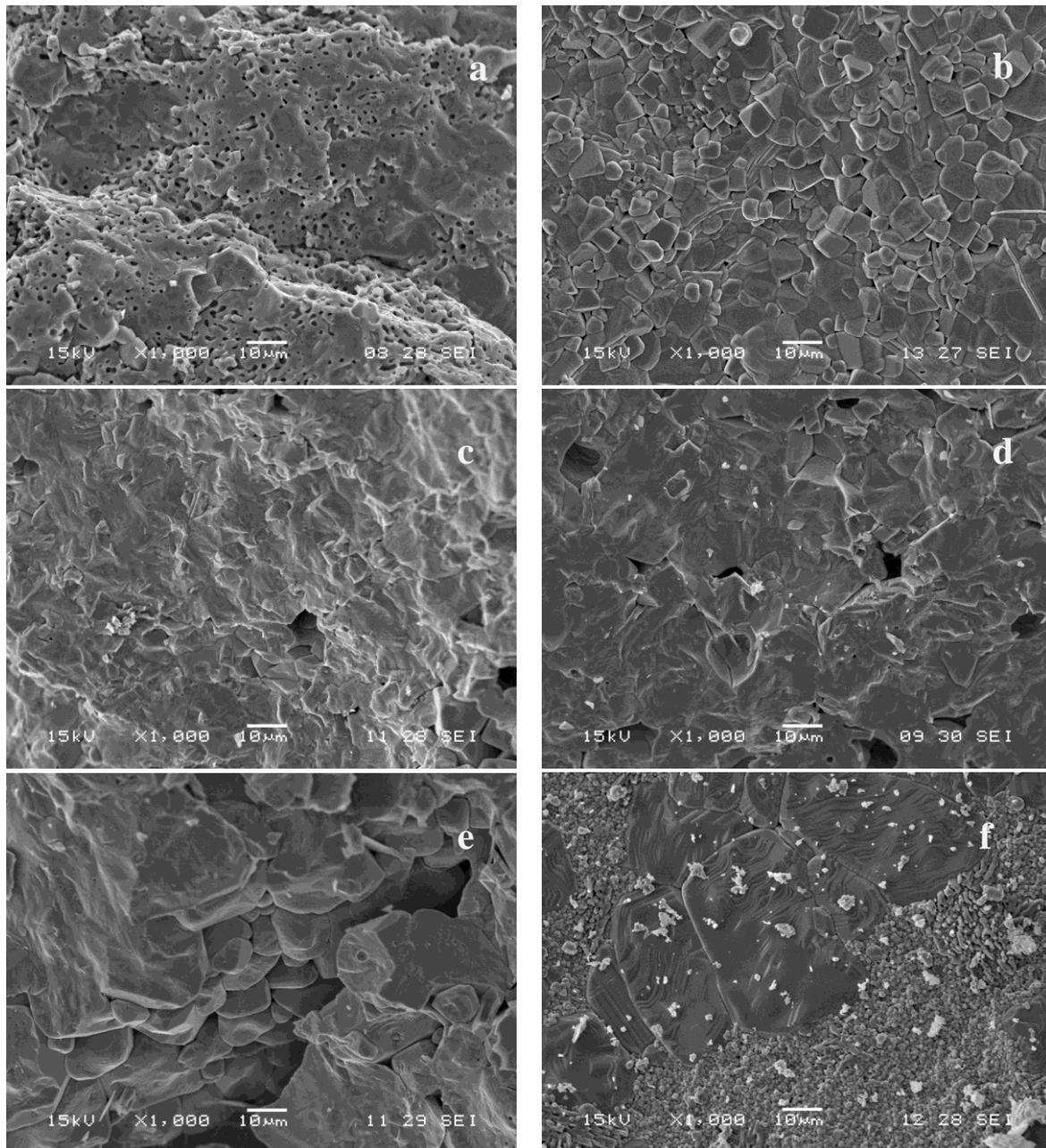


**Figura 3.5.** Espectros Raman de las muestras sinterizadas a 1300 °C.

En los espectros se observa la presencia de la banda aguda a 305 cm<sup>-1</sup> [B<sub>1</sub>, E(TO +LO)], y las bandas anchas a 248 cm<sup>-1</sup>, 519 cm<sup>-1</sup> y 713 cm<sup>-1</sup> con modos de vibración [A<sub>1</sub>(TO)], [A<sub>1</sub>, E(TO)] y [A<sub>1</sub>,E(LO)], respectivamente, que evidencian la presencia de la fase BT tetragonal<sup>[21][22]</sup>. La estabilización de esta estructura también fue anteriormente determinada mediante DRX para las muestras sinterizadas a 1300 °C. En la muestra cc80 no se observan las bandas típicas de la HA que corroboran la descomposición de la misma en presencia de BT, dando lugar a una fase de BT sustituida y a fases secundarias.

### 3.2.4- Caracterización microestructural mediante SEM

En la Figura 3.6 se presentan las imágenes obtenidas mediante SEM de las superficies de fractura, correspondientes a las muestras sinterizadas a 1300 °C.

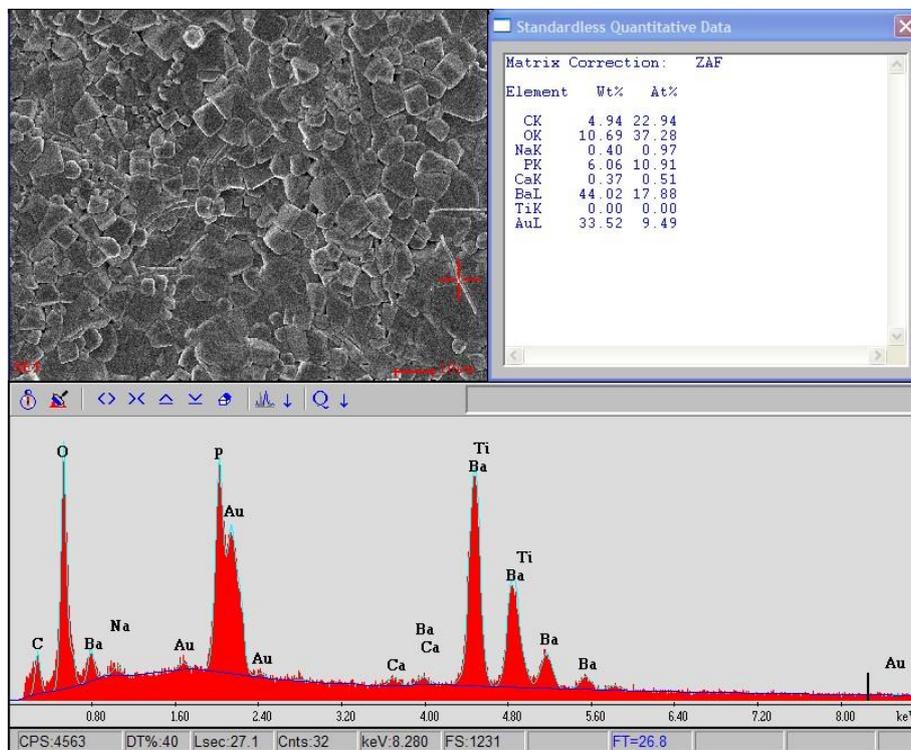


**Figura 3.6.** Imágenes SEM de las muestras a) cHA, b) cc80, c) cc85, d) cc90, e) cc95 y f) cBT sinterizadas a 1300 °C.

A partir de la Figura 3.6 se observa que la muestra de HA presenta una microestructura altamente porosa (Fig.3.6.a). De la serie estudiada, la muestra con 80 %BT presenta una microestructura con tamaño de grano homogéneo y la aparición de una fase secundaria en

forma de placas (Fig.3.6.b). Al incrementar el contenido de BT se observa un crecimiento bimodal del tamaño de granos de BT (Fig.3.6.c, d, e y f).

Utilizando el software Image-Pro Plus v4.5 se midió el tamaño de grano y el diámetro de poros. La muestra cBT presentó una microestructura con tamaño medio de grano de 35  $\mu\text{m}$  distribuidos heterogéneamente en una matriz con tamaños de grano más pequeños (aprox. 0.5-2  $\mu\text{m}$ ). Por otro lado, la muestra cc80 presentó una distribución más homogénea del tamaño de grano con un valor medio de 8  $\mu\text{m}$ . El radio medio de poro de la muestra cHA es de 0,85  $\mu\text{m}$ . Mediante el análisis localizado por EDS (Figura 3.7) se pudo identificar la composición elemental de unas estructuras en forma de varillas o placas, y uniendo esta información con los espectros DRX, se asoció esta estructura a la fase fosfato de bario ( $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ , ficha JCPDS 00-025-0028).



**Figura 3.7.** Imagen SEM-EDS de la muestra cc80 sinterizada a 1300 °C.

### 3.2.5- Comportamiento dieléctrico

En la Tabla 3.III se presentan los valores de permitividad real e imaginaria a 20 kHz de las muestras con distintos contenidos de BT, sinterizadas a 1300 °C. A partir de los resultados, se observa un importante aumento en el valor de la permitividad real con el aumento del contenido de BT. Además, la variación en las propiedades dieléctricas con la composición también puede relacionarse con:

- la porosidad presente en las muestras, aunque no se puede deducir un comportamiento general debido a las variaciones en el grado de porosidad de las muestras.
- la existencia de fases secundarias en las cuales se puede producir una interacción entre la polarización iónica de la fase dieléctrica rica en calcio y los dominios ferroeléctricos presentes en la fase rica en bario<sup>[23][24]</sup>.

**Tabla 3.III.** Valores de permitividad real e imaginaria de las muestras con distintos contenidos de BT.

Material	$\epsilon'$ a 20kHz	$\epsilon''$ a 20kHz
cHA	3	0,6
cc80	19	0,6
cc85	36	1,4
cc90	43	0,7
cc95	36	0,4
cBT	265	3

### 3.3- Materiales compuestos a partir de polvos sintéticos (sHA, sBT)

Partiendo de polvos sintéticos de HA y BT se prepararon muestras con los siguientes porcentajes en volumen de BT: 0, 80, y 100 %v/v. En la Tabla 3.IV, se presenta la nomenclatura de las muestras.

**Tabla 3.IV.** Materiales compuestos obtenidos en la serie sintética.

%v/v BT	0	80	100
Muestra	sHA	ss80	sBT

En este caso no se estudió la serie de composiciones completas debido a que se comenzó un estudio exploratorio en cuanto a la reactividad de las fases que componen el material compuesto a la temperatura de sinterizado. En base a los resultados de las propiedades dieléctricas observados para la serie comercial, se eligió la composición de 80% de BT, dado que con una cantidad de HA del 20% v/v, necesaria para la bioactividad del material, se logra retener parte de las propiedades ferroeléctricas del BT en el material final. Asimismo, con concentraciones muy bajas de HA sería difícil evidenciar la reactividad de las fases.

#### 3.3.1- Medidas de densidad

Se determinó la densidad de la muestra ss80 a las dos temperaturas de sinterizado (Tabla 3.V). Los datos hallados muestran que la variación de densidad no se ve influenciada en gran medida por la temperatura. Consecuentemente, los valores de porosidad calculados resultaron similares.

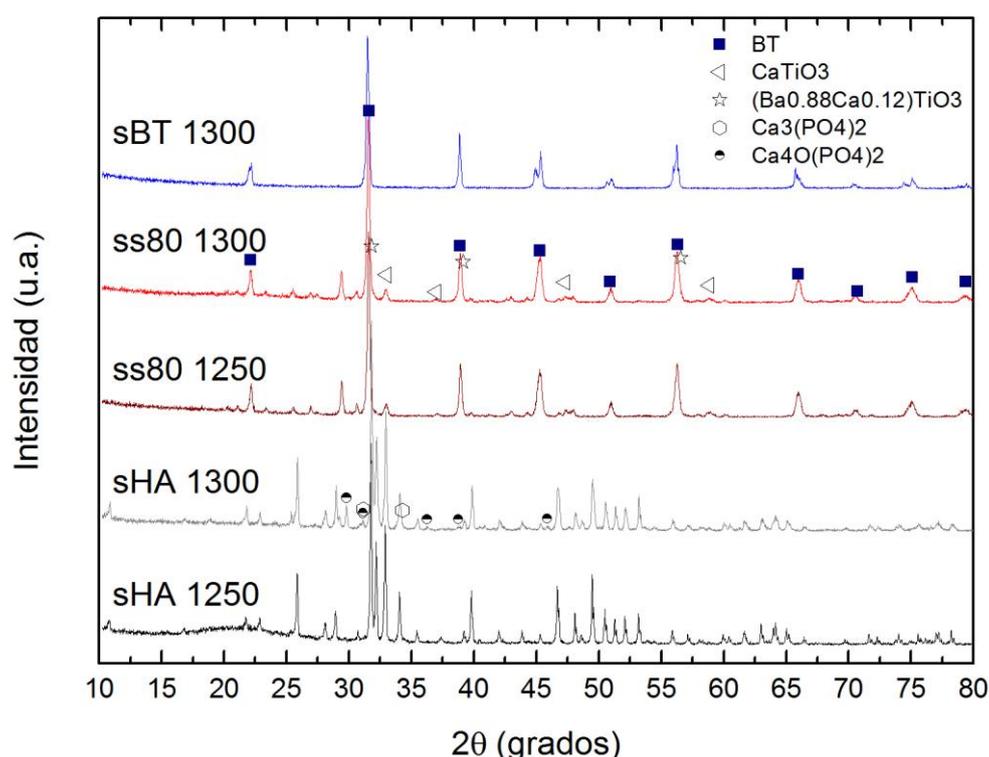
**Tabla 3.V.** Valores de densidad y porosidad porcentual de las muestras de la serie sintética. Densidad teórica:

5,44 g/cm<sup>3</sup>.

Material	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Porosidad %
ss80 1250	4,74	12,9
ss80 1300	4,84	11,0

### 3.3.2- Caracterización por DRX

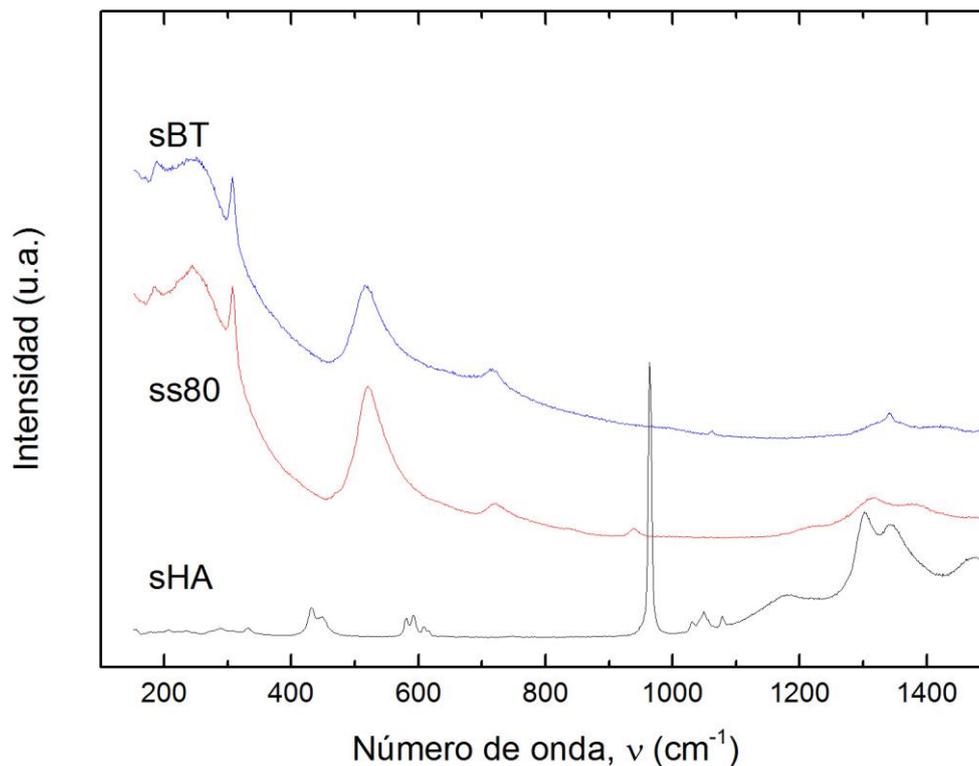
El análisis de las fases presentes por DRX en las muestras ss80 1300 y 1250, reveló la presencia de BT y fases secundarias de titanato de calcio ( $\text{CaTiO}_3$ , ficha JCPDS 01-082-0229) y titanato de bario y calcio ( $(\text{Ba}_{0.88}\text{Ca}_{0.12})\text{TiO}_3$ , ficha JCPDS 01-081-1288) (Figura 3.8). No se observaron diferencias significativas cuali y cuantitativas entre las muestras sinterizadas a diferentes temperaturas. Las muestras sBT 1300 y 1250, sólo presentaron las señales correspondientes a  $\text{BaTiO}_3$  (sólo se presenta el espectro correspondiente a sBT 1300). En las muestras de HA 1300 y 1250 se registraron las señales correspondientes a HA, identificándose también pequeñas proporciones de fosfato tricálcico [ $\beta$ -TCP] y fosfato tetracálcico [TTCP,  $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ ], ficha 00-025-1137. A diferencia de lo observado en la serie comercial, el desdoblamiento de la señal característica de la fase tetragonal de BT a  $2\theta = 45^\circ$  no fue observada en las muestras con 80 %v/vBT de esta serie sinterizada y obtenida a partir de materiales sintéticos.



**Figura 3.8.** Espectros de DRX de las muestras sinterizadas a 1250 °C y a 1300 °C de la serie sintética.

### 3.3.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman

Se realizaron análisis mediante microespectroscopía Raman sobre las muestras correspondientes a la serie sintética sinterizada a 1300 °C. Los resultados se muestran en la Figura 3.9.



**Figura 3.9.** Espectros Raman de las muestras de la serie sintética sinterizadas a 1300 °C.

En los espectros analizados se observa la presencia de las señales características del BT en fase tetragonal (303, 531 y 737  $\text{cm}^{-1}$ ). Si bien por DRX no se había detectado la presencia de esta fase de BT, por espectroscopía Raman es posible decir que existe un cierto grado de tetragonalidad en esta serie. En la muestra ss80 no se observan las bandas típicas de la HA, corroborando la descomposición de la misma en presencia de BT, dando lugar a una fase de BT sustituida y a fases secundarias.

### 3.4- Materiales compuestos a partir de titanato de bario comercial y de hidroxiapatita sintética (cBT, sHA)

Teniendo en cuenta los resultados hallados en el análisis de las series anteriores, se propuso estudiar el comportamiento de materiales compuestos por BT comercial, que presenta un mayor grado de tetragonalidad a 1300 °C, y HA sintética, que presenta mayor estabilidad térmica respecto a la comercial. Se prepararon 6 composiciones para esta serie (Tabla 3.VI). La serie de muestras fue sinterizada a 1300 °C durante 2 h.

**Tabla 3.VI.** Materiales compuestos obtenidos en la serie comercial/sintética.

%v/v BT	0	20	40	60	80	100
Muestra	csHA	cs20	cs40	cs60	cs80	csBT

#### 3.4.1- Medidas de densidad

La Tabla 3.VII muestra los valores de densidad obtenidos experimentalmente para la serie comercial/sintética.

**Tabla 3.VII.** Valores de densidad y porosidad porcentual de las muestras de la serie comercial/sintética.

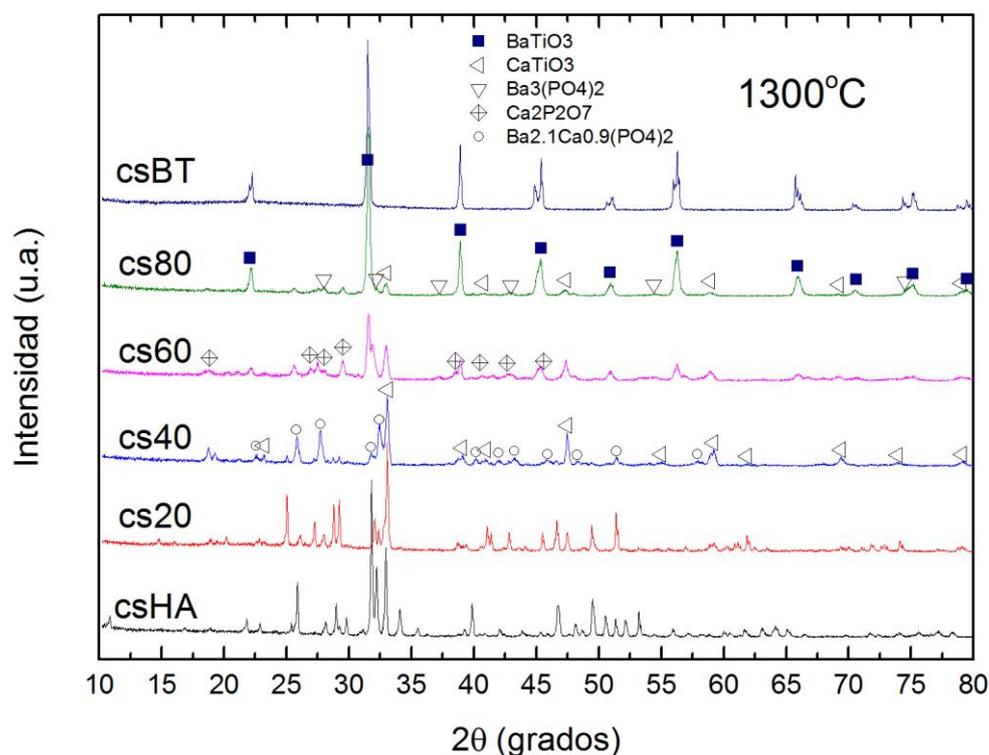
Material	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	Densidad Teórica*	Porosidad %
csHA	2,60 ± 0,04	3,15	17,4 ± 1,3
cs20	3,07 ± 0,14	3,72	17 ± 4
cs40	2,74 ± 0,05	4,3	36,3 ± 1,2
cs60	4,46 ± 0,09	4,87	8,4 ± 1,8
cs80	5,09 ± 0,05	5,44	6,5 ± 1,0
csBT	5,81 ± 0,04	6,02	3,5 ± 0,7

\*la densidad teórica se calculó considerando que el material está compuesto por HA y BT puros, aunque éstas no son las únicas fases que componen las muestras.

Es evidente que el aumento con el contenido de BT disminuye el grado de porosidad de los compuestos, a excepción de la muestra cs40 que registra un aumento muy importante en su porosidad.

### 3.4.2- Caracterización por DRX

El análisis de las fases presentes por DRX, reveló la presencia de BT y fases secundarias de fosfatos de bario y calcio en las muestras con mayores contenidos de BT (cs80, cs60 y cs40) (Figura 3.10).



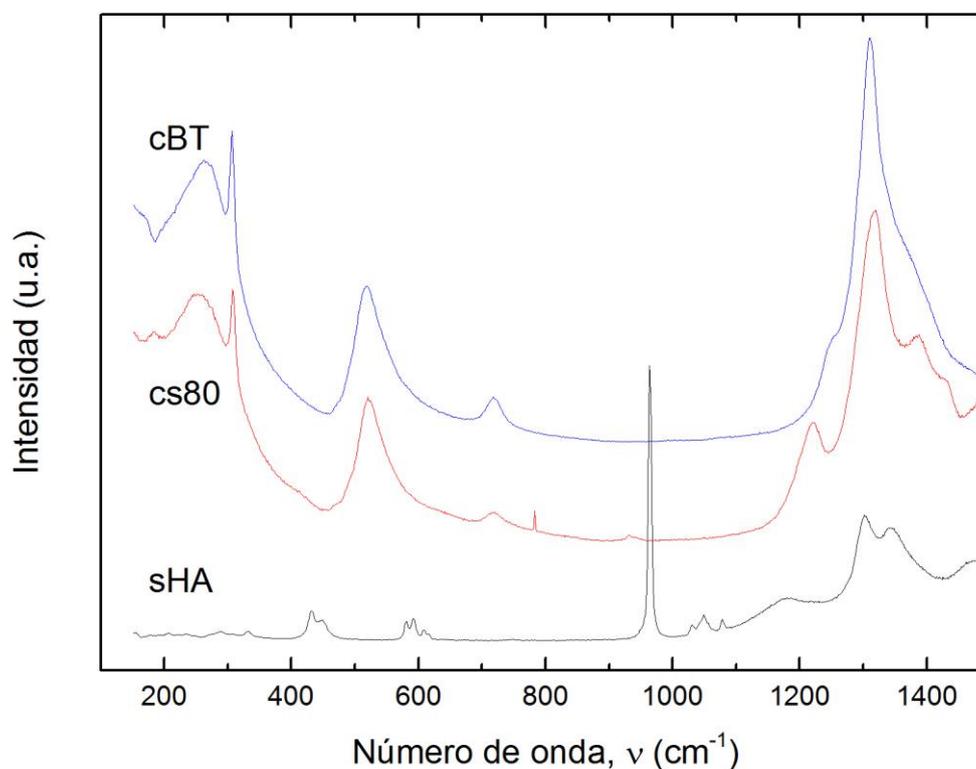
**Figura 3.10.** Espectros de DRX de las muestras sinterizadas a 1300°C de la serie comercial/sintética.

Al analizar los espectros de DRX en esta serie, se puede determinar que el aumento en el contenido de HA disminuye el grado de tetragonalidad de la fase BT. En el espectro de la muestra cs80 se observa que el pico a 45° presenta un ensanchamiento notable que indica la convivencia de la fase cúbica y tetragonal del BT (fase pseudocúbica de BT).

En las muestras cs20 y cs40 se identificó la presencia de titanato de calcio ( $\text{CaTiO}_3$ ) proveniente de la reacción de la mezcla BT/HA con altos contenidos de HA, como así también la formación de fosfato de bario ( $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$ ), entre otros.

### 3.4.3- Caracterización mediante microespectroscopía Raman

Se realizaron análisis mediante microespectroscopía Raman sobre las muestras correspondientes a la serie comercial-sintética sinterizada a 1300 °C. Los resultados se muestran en la Figura 3.11.

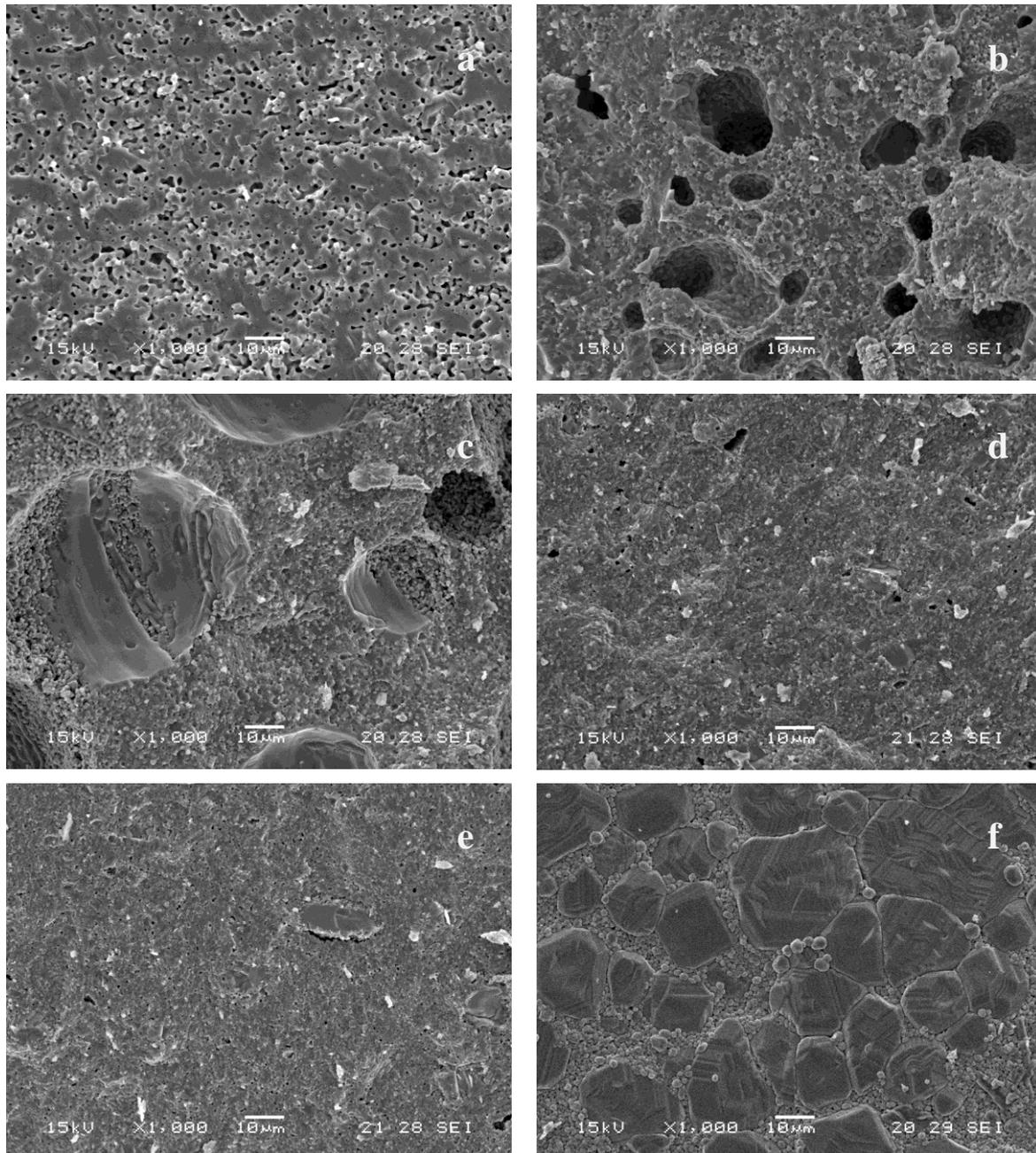


**Figura 3.11.** Espectros Raman de las muestras de la serie comercial/sintética.

En la Figura 3.11 se observa la presencia de las señales características del BT en fase tetragonal ( $303, 531$  y  $737 \text{ cm}^{-1}$ ). Si bien, en la muestra con cs80 por DRX se había detectado un ensanchamiento del pico característico a  $45^\circ$ , por espectroscopía Raman es posible confirmar que existe un cierto grado de tetragonalidad en esta muestra. En la muestra cs80 no se observan las bandas típicas de la HA que corroboran la descomposición de la misma en presencia de BT, dando lugar a una fase de BT sustituida y a fases secundarias.

### 3.4.4- Caracterización microestructural mediante SEM

En la Figura 3.12 se presentan las imágenes obtenidas mediante SEM, de las superficies de fractura, correspondientes a las muestras sinterizadas a 1300 °C.

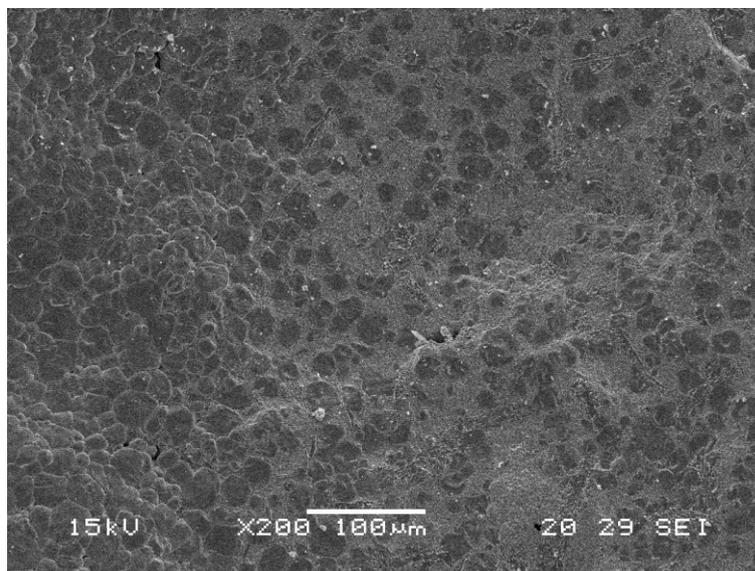


**Figura 3.12.** Imágenes SEM de las muestras a) sHA, b) cs20, c) cs40, d) cs60, e) cs80 y f) cBT sinterizadas a 1300 °C.

Se observa que la muestra de HA pura presenta una microestructura porosa, con poros de tamaño uniforme. En las muestras cs20 y cs40 se observan micro y macroporos. Estos últimos podrían provenir de la descomposición y alta reactividad de las fases que conducen a

la formación de fases líquidas durante el sinterizado. Estas observaciones microestructurales son congruentes con los valores de densidad medidos en estos compuestos. Para mayores contenidos de BT, se observa una microestructura más densa. Nuevamente se observa una distribución bimodal de tamaño de grano en la muestra cBT.

En la muestra cBT se observó una distribución bimodal de granos, como muestra la Figura 3.13. Esta distribución de tamaños, se relaciona con las fases estabilizadas, dado que por estudios previos<sup>[12]</sup>, se ha establecido que en los granos de mayor tamaño el titanato de bario tiende a estabilizarse en una fase tetragonal, mientras que en los de tamaño menor a una micra, disminuye su grado de tetragonalidad.

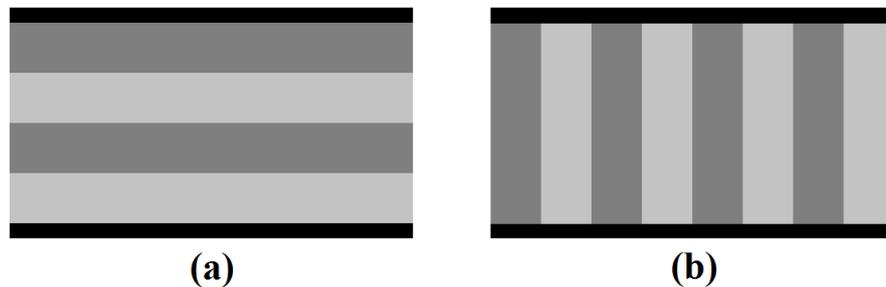


**Figura 3.13.** Imagen SEM a x200 de la muestra cBT sinterizada a 1300 °C.

### 3.4.5- Comportamiento dieléctrico

En la Figura 3.15 se presentan las curvas de permitividad real e imaginaria a 20 kHz de las muestras con distintos contenidos de BT sinterizadas a 1300 °C. A partir de los resultados, se observa un importante aumento en el valor de la permitividad real con el aumento en el contenido de BT. El valor de  $\epsilon'$  del BT ( $170 \pm 40$ ) es marcadamente inferior al reportado en bibliografía (valores entre 2000 y 4500). Este valor tan bajo para  $\epsilon'$  puede ser atribuido al alto grado de porosidad de las muestras y la elevada fracción de granos de pequeños tamaño en los cuales el grado de tetragonalidad es bajo, como se mencionó anteriormente.

A modo de comparación de los valores de  $\varepsilon'$  se calcularon las permitividades de los compuestos utilizando dos modelos sencillos que consideran a las dos fases conectadas como placas en serie o en paralelo (Figura 3.14).



**Figura 3.14.** Modos de conexión ideal de un compuesto bifásico, (a) serie (b) paralelo

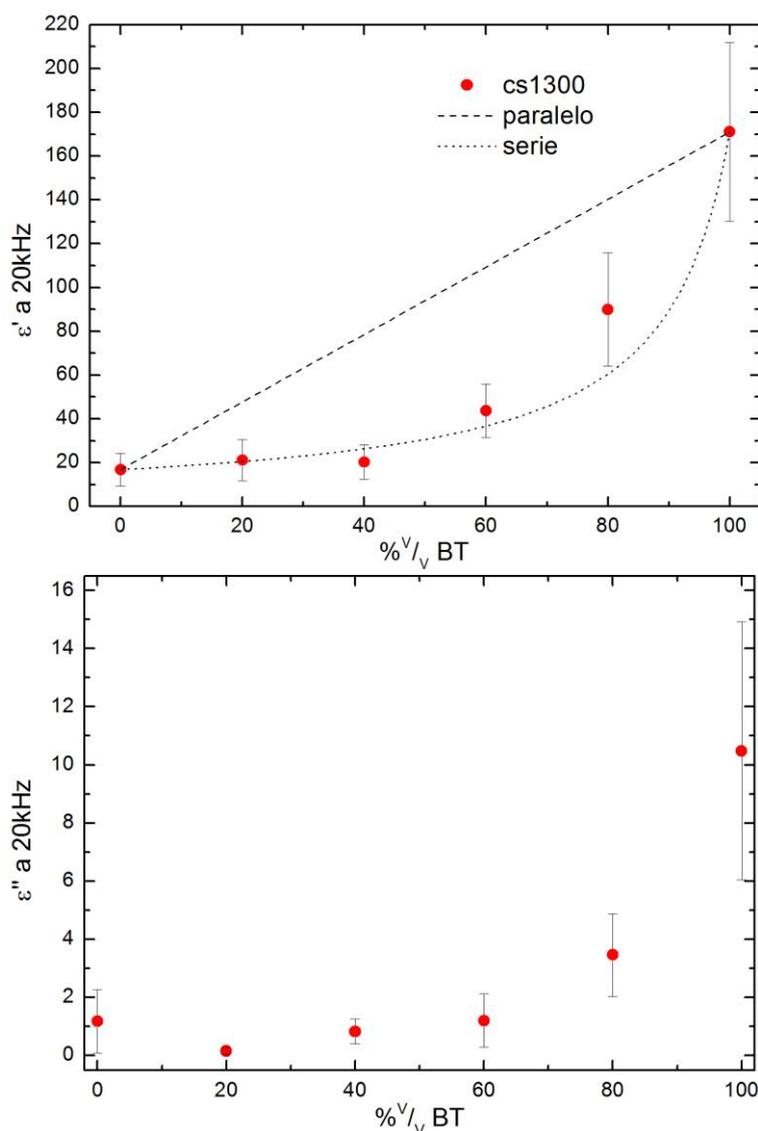
De este modo, la permitividad calculada en el modelo en paralelo se obtuvo a partir de:

$$\varepsilon'_{\text{compuesto, paralelo}} = f_{TB} \cdot \varepsilon'_{TB} + f_{HA} \cdot \varepsilon'_{HA}, \quad \text{Ec. (3.1)}$$

y para el modelo en serie mediante la expresión:

$$\frac{1}{\varepsilon'_{\text{compuesto, serie}}} = \frac{f_{TB}}{\varepsilon'_{TB}} + \frac{f_{HA}}{\varepsilon'_{HA}}, \quad \text{Ec. (3.2)}$$

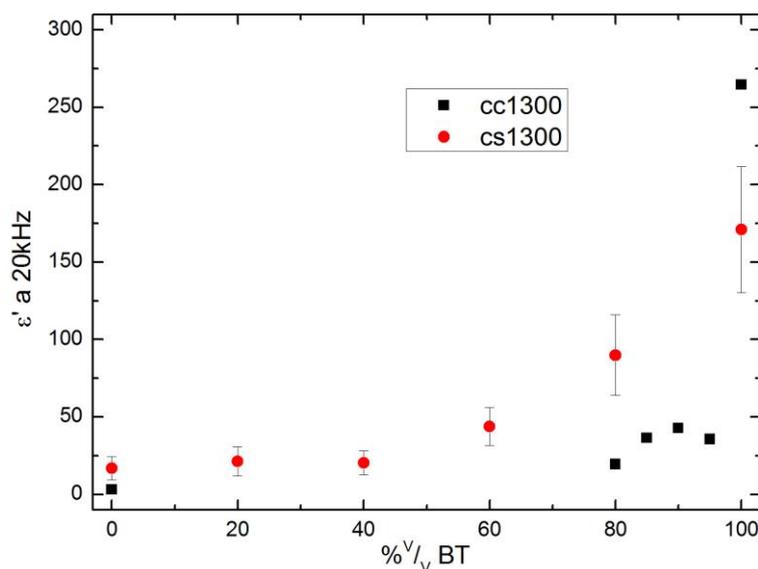
donde,  $\varepsilon'_i$  y  $f_i$  son la permitividad real y la fracción volumétrica del material  $i$ , respectivamente. En la Figura 3.15 se representan los valores medidos y se muestran en línea rayada el modelo en paralelo y en línea punteada el modelo en serie.



**Figura 3.15.** Curvas de permitividad real e imaginaria de las muestras con distintos contenidos de BT.

Se observa que los valores tienen un comportamiento intermedio entre ambos modelos debido a la aparición de fases secundarias, a la porosidad de las muestras que disminuye los valores de permitividad observados y la interconexión entre las distintas fases.

Al comparar estos valores con los valores medidos para la serie realizada con materia prima íntegramente comercial (Figura 3.16), se observa que en general la serie comercial-sintético presenta mayores valores de permitividad real e imaginaria. Este fenómeno puede atribuirse a la menor reactividad de la HA sintética respecto de la comercial, que permite mantener una mayor proporción de fase dieléctrica en la mezcla luego del proceso de sinterizado.



**Figura 3.16.** Curvas de permitividad real vs composición para las series comercial y comercial-sintética.

Cabe mencionar que la diferencia entre valores de permitividad real correspondiente a la serie cc1300 y cs1300 de las muestras con 100% de BT puede atribuirse a un cambio en el tipo de electrodo con vistas a los estudios biológicos posteriores. En los materiales comerciales se pintaron electrodos de plata y en esta nueva serie (comercial/sintética) se usaron discos de plata que se mantuvieron bajo presión sobre la muestra, de modo que las muestras presenten superficies libres de plata.

Este cambio de electrodo generó una diferencia en el valor medido de permitividad para las muestras ccBT y csBT, por ello, esta comparación se presenta únicamente para comparar comportamientos de las series.

### 3.4.6- Coeficiente piezoeléctrico

En la Tabla 3.VIII se presentan los valores de constante piezoeléctrica ( $d_{33}$ ) de las muestras sinterizadas y previamente polarizadas. Se observa que al incrementar el contenido de BT se produce un importante aumento en la constante piezoeléctrica. No se pudo determinar la constante piezoeléctrica en las muestra con mayores contenidos de HA debido a que presentaron una alta porosidad que dificulta su polarización previa, y a que el equipamiento disponible en INTEMA no permite polarizar las muestras con potenciales eléctricos superiores a los 2300 V.

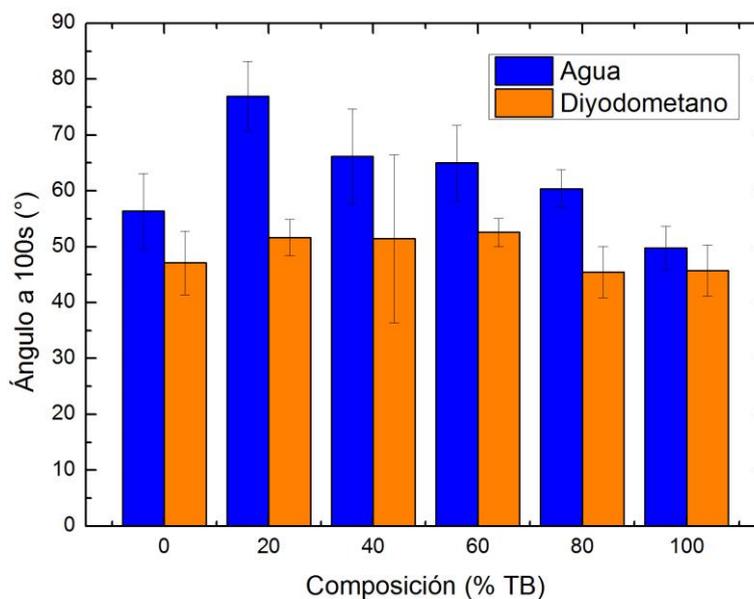
**Tabla 3.VIII.** Valores de constante piezoeléctrica ( $d_{33}$ ) de las muestras correspondientes a la serie comercial-sintética.

Material	$d_{33}$ ( $\mu\text{C/N}$ )
cs80	13 $\pm$ 3
csBT	37 $\pm$ 16

### 3.4.7- Características superficiales de las muestras

Se determinó el ángulo de contacto de las muestras con un solvente polar (agua desionizada) y uno no polar (diyodometano) para caracterizar las superficies de los materiales sinterizados. En la Figura 3.17 se muestran los valores de ángulo de contacto obtenidos para las muestras antes de la polarización. Se observa que el solvente no polar presenta una mejor mojabilidad de las muestras, y no presenta una marcada tendencia con la composición. Por otro lado, se observa que la muestra con 20 %v/v BT es la que presenta un mayor ángulo de contacto con el agua.

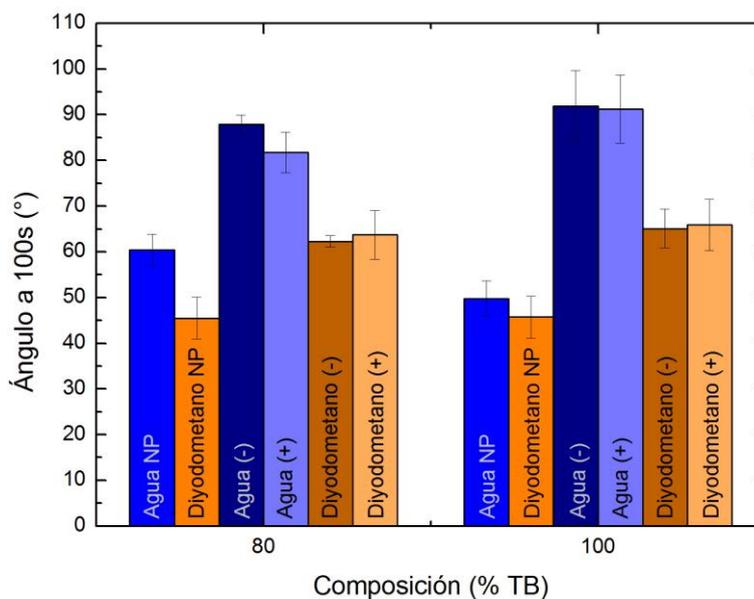
Las composiciones que registraron mayores valores de ángulo son las muestras que presentan elevados valores de porosidad (Tabla 3.VII) y a su vez presentan una alta cantidad de poros de gran tamaño (Figura 3.12). Esto podría estar asociado a un fenómeno de capilaridad que modifica el acomodamiento de la gota y resulta en bajos valores de mojabilidad.



**Figura 3.17.** Ángulo de contacto vs composición para las muestras no polarizadas.

Luego de la polarización, se realizó nuevamente la medición de ángulo de contacto en las muestras que pudieron ser polarizadas (80 y 100 %v/v BT). Previo a la medición, las muestras fueron lavadas con detergente en un baño ultrasónico y posteriormente, secadas.

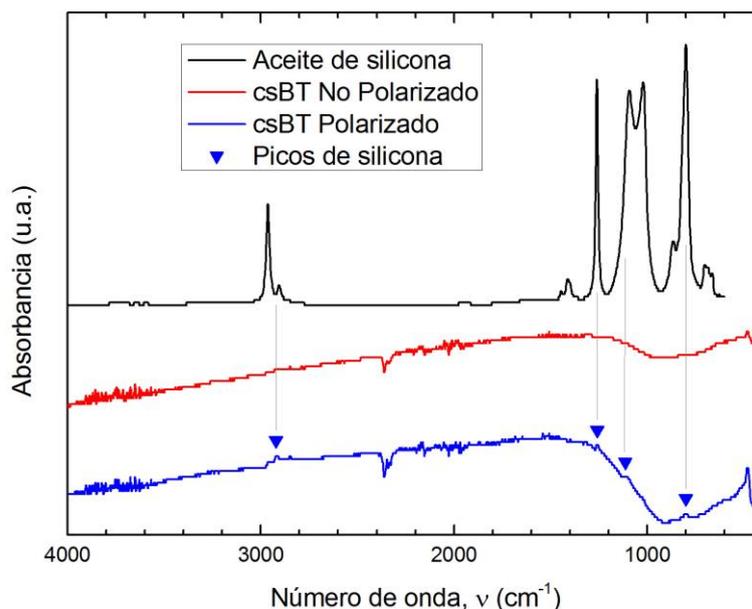
En la medición de los ángulos de contacto se diferenciaron las medidas efectuadas sobre las caras con carga positiva y negativa de las muestras, como se muestra en la Figura 3.18. En todos los casos, se observó un aumento de los ángulos de contacto medidos luego de la polarización, sin registrarse diferencias significativas entre las caras. Este resultado contradice lo reportado en bibliografía, donde luego de la polarización se registra una mejora en la mojabilidad (disminución del ángulo de contacto), atribuida por Bodhak y *col.* al incremento en la densidad iónica superficial<sup>[11]</sup>.



**Figura 3.18.** Ángulo de contacto a 100s para las muestras de 80 y 100 %BT antes y después de la polarización.

Luego de analizar las posibles fuentes de error en la medición, se planteó la posibilidad de que las muestras contuvieran restos de aceite de silicona proveniente del baño en el que fueron sumergidas durante la polarización para evitar la formación de un arco eléctrico entre los electrodos. Dicho aceite remanente puede modificar las características superficiales de la muestra y aumentar el ángulo de contacto debido a que la película residual actuaría como un film “impermeable” debido a su muy baja tensión superficial.

Para corroborar la presencia de aceite de silicona remanente, se realizó un análisis mediante FTIR de una muestra de aceite de silicona, y de la superficie mediante reflectancia por FTIR correspondiente a dos muestras de BT, una que nunca pasó por el baño de aceite y la otra polarizada y lavada en ultrasonido con detergente. Los espectros se presentan en la Figura 3.19.



**Figura 3.19.** Espectros de FTIR para verificar el grado de contaminación.

En la Figura 3.19 pueden observarse pequeñas señales atribuibles al aceite de silicona presente en la muestra polarizada. Estas señales indican la presencia del aceite como residuo de la polarización que no pudo ser eliminado totalmente luego del proceso de limpieza con detergente en el baño ultrasónico.

Estos problemas en la limpieza de los residuos de aceite de silicona también fueron observados en otros sistemas, donde se encontró que la medición de ángulo de contacto es hasta tres órdenes de magnitud más sensible que la espectroscopía FTIR para la detección de la presencia de restos de aceite de silicona <sup>[25]</sup>.

Por ello, si bien la intensidad de las señales por FTIR es baja, la detección del aceite de silicona mediante esta técnica es un indicador de que las mediciones de ángulo de contacto resultaran modificadas. Para eliminar estos restos deberían ensayarse otros métodos de limpieza o modificar la celda de polarización para eliminar el medio de aceite de silicona en el ensayo. Estas alternativas requieren implementar métodos que están fuera del alcance de este trabajo.

### 3.4.8- Ensayos biológicos de citotoxicidad

A continuación se presentan los resultados del ensayo de citotoxicidad realizados con embriones de pez cebra. Para una mayor comprensión, se comparan por un lado los materiales puros comerciales y sintéticos, luego se hace una comparación de la serie comercial-sintética, teniendo en cuenta las composiciones 0, 20, 80 y 100 %v/v BT, y por último se compara la composición 80 %v/v BT de las tres series.

#### Estudio sobre HA

Los resultados del estudio sobre ambas muestras de HA, tanto la comercial como la sintetizada en el laboratorio (Tabla 3.IX) mostraron que ambas muestras no son citotóxicas, ya que no se registró mortandad de embriones. Cabe recordar que estas muestras se comportaron de manera diferente durante el proceso de sinterizado, dado que la muestra de cHA resultó principalmente  $\beta$ -TCP (Figura 3.4.b) y la muestra de sHA resultó estable con la temperatura (Figura 3.10).

**Tabla 3.IX.** Mortalidad de embriones con extractos de 7 días post-incubación para la serie HA.

Muestra	% de mortalidad			
	24h	48h	72h	Total
Control (medio embrionario)	0	0	0	0
cHA	0	0	0	0
sHA	0	0	0	0

#### Estudio sobre BT

En la Tabla 3.X se muestran los resultados del estudio sobre la muestra comercial y la sintética de BT. No se registró mortandad de embriones para la muestra comercial, mientras que para la muestra sintética se registró una mortandad total.

**Tabla 3.X.** Mortalidad de embriones con extractos de 7 días post-incubación para la serie BT

Muestra	% de mortalidad			
	24h	48h	72h	Total
Control (medio embrionario)	0	0	0	0
cBT	0	0	0	0
sBT	0	0	100	100

Una diferencia fundamental entre las muestras cBT y sBT es el tamaño de grano. La muestra sBT está formado por partículas muy pequeñas, con alta superficie específica respecto de la muestra cBT. Una mayor superficie específica favorecería la disolución de iones de la muestra lo que incrementaría la velocidad de disolución del material en medios biológicos respecto a la muestra cBT.

Mediante estudios previos Neubrand y *col.*<sup>[26]</sup> determinaron que los iones bario ubicados en los sitios superficiales pueden sufrir una reacción superficial de disolución. Por este motivo, las diferencias en el tamaño medio de grano de las muestras correspondientes a la serie comercial/sintética pueden correlacionarse con los resultados de citotoxicidad.

#### Estudio sobre serie comercial-sintética

Al observar los resultados de las composiciones de la serie comercial-sintética estudiada (sHA, cs20, cs80 y cBT), mostrados en la Tabla 3.XI, se aprecia que la muestra cs20 registró una mortalidad del 100%, mientras que la muestra cs80 no presentó mortandad. En la muestra cs20, la fase mayoritaria es el titanato de calcio formado durante el sinterizado de la muestra. En estas muestras también, la granulometría posee influencia sobre los procesos de disolución en el medio acuoso. Cabe recordar que la muestra cs20 formó un alto contenido de fase líquida durante el proceso de sinterizado que condujo a la formación de una microestructura altamente porosa. Esta fase secundaria formada en el proceso de sinterizado posee una menor estabilidad que la fase de titanato de bario inicial y, por ende, tiende a solubilizarse en el medio de cultivo en mayor proporción.

**Tabla 3.XI.** Mortalidad de embriones con extractos de 7 días post-incubación para la serie comercial-sintética

Muestra	% de mortalidad			
	24h	48h	72h	Total
Control (medio embrionario)	0	0	0	0
sHA	0	0	0	0
cs20	0	0	100	100
cs80	0	0	0	0
cBT	0	0	0	0

Estudio sobre 80 %v/v BT

Se decidió comparar la citotoxicidad de la mezcla de 80 %v/v BT para las diferentes combinaciones de materiales de partida, dado que fue la única composición intermedia que se pudo polarizar en este trabajo. En la Tabla 3.XII se puede observar que la muestra cs80 presentó biocompatibilidad, en tanto que para las otras dos se registró una mortandad total.

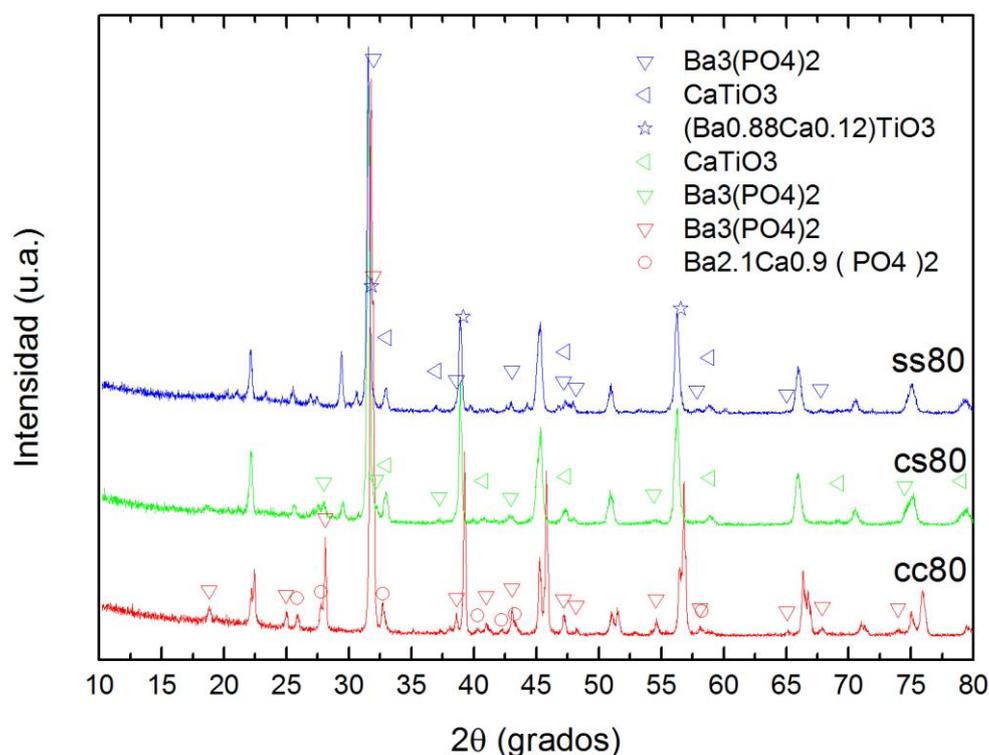
**Tabla 3.XII.** Mortalidad de embriones con extractos de 7 días post-incubación para la serie 80 %v/v BT

Muestra	% de mortalidad			
	24h	48h	72h	Total
Control (medio embrionario)	0	0	0	0
cc80	0	0	100	100
cs80	0	0	0	0
ss80	0	0	100	100

En la muestra cc80, la fase mayoritaria resultó ser BT tetragonal, con una sustitución parcial de iones bario por iones calcio, y en menor cantidad se encontraron fases secundarias ( $\beta$ -TCP y otras).

Por otra parte, la muestra ss80 se formuló con HA sintética, que es más estable que la HA comercial, por lo que se encontró una menor sustitución de iones, y con BT sintético, principalmente cúbico, y poco biocompatible, como se observa en la Tabla 3.X. Además, se encontraron fases secundarias de fosfatos de bario y calcio, cuya compatibilidad se desconoce.

Finalmente, la muestra cs80 se constituyó con los materiales térmicamente más estables (Figura 3.20), por lo que se observa una menor proporción de fases secundarias que en las otras muestras. El hecho de que las materias primas sean más estables se podría asociar a una menor solubilidad, lo que limitaría la liberación de iones al medio de incubación, este hecho explicaría la mayor biocompatibilidad de esta muestra.



**Figura 3.20.** Espectros de DRX de las muestras formuladas con 80 %v/v de BT donde se identifican las fases secundarias formadas en el proceso de sinterizado a 1300 °C.

## 4.- Conclusiones

La motivación de este estudio se basó en el conocimiento del carácter piezoeléctrico de los huesos, y en la búsqueda de un mejor desempeño de los materiales de hidroxiapatita polarizados. Poder modular la velocidad de osteointegración con el grado de polarización de los materiales compuestos de hidroxiapatita y titanato de bario fue el objetivo general planteado para este trabajo.

El sistema de estudio propuesto constituye un campo de investigación novedoso y con incógnitas aún por responder, fundamentalmente por la complejidad del mismo en cuanto a dificultades experimentales, reactividad química del sistema y en particular a los inconvenientes que surgen de ensamblar metodologías de áreas diferentes como la de los biomateriales y de materiales electrocerámicos.

A partir de las observaciones experimentales obtenidas en este proyecto es posible concluir que la estabilidad de los materiales de partida condicionó la reactividad del sistema estudiado. Si bien no existen reportes concluyentes acerca de la posible reactividad entre los componentes iniciales, en este trabajo se determinó que la formación de fases secundarias durante el proceso de sinterizado resultó un factor clave en el posterior desempeño de estos materiales. En este sentido, se pueden enumerar las siguientes conclusiones:

- Se logró sintetizar polvos de hidroxiapatita y titanato de bario por métodos químicos a partir de reactivos simples de laboratorio, aplicando técnicas de precipitación y de reacción en estado sólido, respectivamente.
- Se hallaron diferencias sustanciales en la estabilidad térmica de las fases de los materiales sintetizados respecto de los comerciales. En particular la hidroxiapatita sintética resultó más estable térmicamente que la hidroxiapatita comercial, esta última dio lugar a materiales bifásicos de  $\beta$ -TCP e HA. Por otro lado, el titanato de bario comercial presentó un tamaño de partícula mayor que el sintético lo cual favoreció la estabilización de la fase ferroeléctrica.
- Se estudiaron combinaciones de materiales sintéticos y comerciales en distintas proporciones (0, 20, 40, 60, 80 y 100 % de titanato de bario), resultando la serie de hidroxiapatita sintética y titanato de bario comercial la serie más promisoría para la aplicación buscada.

- En general, la densidad de las muestras aumentó con la incorporación de titanato de bario en la serie de hidroxiapatita sintética y titanato de bario comercial. Sin embargo, las muestras con 20 y 40 %v/v BT presentaron una porosidad del orden de 20-35 %, asociada a la formación de fase vítrea producto de la alta reactividad del sistema.
- En composiciones con bajos contenidos de HA de la serie hidroxiapatita y titanato de bario comerciales, se observó un corrimiento en las señales de DRX característicos de BT hacia mayores valores de ángulo  $2\theta$ , debido a la sustitución parcial de iones bario por iones calcio. Esta sustitución tuvo posterior influencia en las propiedades finales de los compuestos.
- En todas las composiciones intermedias de las diversas series estudiadas se observó la formación de fases secundarias, y hasta la desproporción de la hidroxiapatita comercial en fosfato tricálcico. Estas fases fueron altamente dependientes de la reactividad de los materiales de partida.
- El aumento en la temperatura de sinterizado de 1250 a 1300 °C modificó el grado de tetragonalidad de la fase ferroeléctrica, sin producir cambios importantes en la densidad de las muestras ni en el contenido de fases secundarias.
- Las muestras de BT sinterizadas a 1300 °C presentaron un crecimiento irregular de granos, observándose granos de hasta 40  $\mu\text{m}$  distribuidos heterogéneamente en una matriz con tamaños de grano más pequeños (aprox. 0.5-2  $\mu\text{m}$ ).
- Las muestras con contenidos de BT menores al 80 %v/v no pudieron ser polarizadas con el equipamiento disponible en el laboratorio.
- Los valores de constante piezoeléctrica medidos resultaron inferiores a los reportados en bibliografía, esto se asocia a la porosidad de las muestras y al bajo grado de tetragonalidad de la fase BT, además de la presencia de fases secundarias no piezoeléctricas.
- La biocompatibilidad de los materiales compuestos obtenidos resultó altamente dependiente de la composición de las muestras, siendo consecuencia de los diferentes niveles de iones liberados en el medio donde se efectuó el ensayo.

## 5.- Trabajo futuro

Se delinear a continuación una serie de actividades que permitirían avanzar en el objetivo general de este proyecto y profundizar en el comportamiento del sistema estudiado:

- Desarrollar los materiales compuestos partiendo de un polvo de titanato de bario sintético con elevado grado de tetragonalidad.
- Ensayar polvos con diferente granulometría a los ensayados, para reducir o eliminar los problemas de delaminación durante el prensado.
- Modificar la capacidad del equipo de polarización para desarrollar un mayor potencial eléctrico y lograr polarizar muestras con menores contenidos de titanato de bario.
- Construir una nueva la celda que permita polarizar las muestras sin la utilización del aceite de silicona como medio aislante. Otra posibilidad es ensayar fluidos que permitan limpiar los restos del aceite.
- Profundizar los estudios biológicos, utilizando otras técnicas y ensayando muestras polarizadas.

## 6.- Referencias

- [1] Williams D.F., ed., *Progress in Biomedical Engineering*, **4**, Elsevier, New York (1987).
- [2] Dorozhkin, S. V., “Medical Application of Calcium Orthophosphate Bioceramics”, *BIO* **1**, (2011) 1-51.
- [3] Levitt, S. R., *et al*, “Forming Method for Apatite Prostheses”, *J. Biomed. Mater. Res.* **3**, (1969) 683-684.
- [4] Sopyan, I., *et al*, “Porous hydroxyapatite for artificial bone applications”, *Sci. Technol. Adv. Mater.* **8**, (2007) 116-123.
- [5] Yao, X., *et al*, “Fabrication of hydroxyapatite ceramics with controlled pore characteristics by slip casting”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **16**, (2005) 161-165.
- [6] de Aza, P., *et al*, “Biocerámicas”, en “Biomateriales” de Sastre, R., *et al.*, Capítulo 3, Faenza Editrice Iberica, España, 2004.
- [7] Jarcho, M., “Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics”, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, **157**, (1981) 259–278.
- [8] Hench, L. L., “Bioceramics”, *Joint American Ceramic Society*, **81**, (1998) 1705–1728.
- [9] Mobasherpour, I., *et al*, “Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method”, *Journal of Alloys and Compounds*, **430**, (2007) 330–333.
- [10] Yamashita, K., *et al*, “Acceleration and deceleration of bone-like crystal growth on ceramic hydroxyapatite by electric poling”, *Chem. Mater.*, **8**, (1996) 2697–700.
- [11] Bodhak, S., *et al*, “Role of surface charge and wettability on early stage mineralization and bone cell–materials interactions of polarized hydroxyapatite”, *Acta Biomaterialia*, **5**, (2009) 2178–2188.
- [12] Moulson, A. J., *et al*, “Electroceramics: Materials, Properties, Applications”, Segunda Edición, John Wiley & Sons, Chichester, Inglaterra, 2003.
- [13] Buchanan, R.C., “Ceramic Materials for Electronics. Processing, properties, and applications”. Capítulo 3, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, USA, 1991.
- [14] Berlincourt, D., *et al*, “Elastic and Piezoelectric Coefficients of Single-Crystal Barium Titanate”, *Phys. Rev.*, **111**, (1958) 143–148.

- [15] Feng, J., *et al*, “Promotion of osteogenesis by a piezoelectric biological ceramic”, *Biomaterials*, **18**, (1997) 1531-1534.
- [16] Hwang, K. S., *et al*, “Effect of poling conditions on growth of calcium phosphate crystal in ferroelectric BaTiO<sub>3</sub> ceramics”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **13**, (2002) 133-138.
- [17] Bowen, C. R., *et al*, “Dielectric and piezoelectric properties of hydroxyapatite-BaTiO<sub>3</sub> composites”, *Applied Physics Letters*, **89**, (2006) 132906.
- [18] Baxter, F. R., *et al*, “An in vitro study of electrically active hydroxyapatite-barium titanate ceramics using Saos-2 cells”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **20**, (2009) 1697–1708.
- [19] Strähle, U., *et al*, “EuFishBioMed (COST Action BM0804): A european network to promote the use of small fishes in biomedical research”, *Zebrafish*, **9**, (2012) 90-93.
- [20] Strähle, U., *et al*, “Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments-a commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations”, *Reprod. Toxicol.*, **33**, (2012) 128-132.
- [21] Cho, W.S., “Structural evolution and characterization of BaTiO<sub>3</sub> nanoparticles synthesized from polymeric precursor”, *J. Phys. Chem. Solids.*, **59**, (1998) 659-666.
- [22] Moreira, M. L., *et al*, “Hydrothermal Microwave: a new route to obtain photoluminescent crystalline BaTiO<sub>3</sub> nanoparticles”, *Chem. Mater.*, **20**, (2008) 5381-5387
- [23] Wang, X., *et al*, “Large electrostriction near the solubility limit in BaTiO<sub>3</sub>-CaTiO<sub>3</sub> ceramics”, *Applied Physics Letters*, **86**, (2005) 22905, 1-3.
- [24] Wang, X., *et al*, “Dielectric nonlinear properties of BaTiO<sub>3</sub>-CaTiO<sub>3</sub>-SrTiO<sub>3</sub> ceramics near the solubility limit”, *Mater. Chem. Phys.*, **112**, (2008) 675–678.
- [25] Liedtke, V., *et al*, “Cleaning of silicone contaminations: development of test methods and assessment of cleaning efficiency” en el 11<sup>th</sup> ISMSE, Aix-en-Provence, Francia, 2009.
- [26] Neubrand, A., *et al*, “Room-temperature solubility behavior of barium titanate in aqueous media”, *J. Am. Ceram. Soc.*, **83**, (2000) 860-64.